Aus der Universitätskinderklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. J. Ströder

DER NACHWEIS BISHER UNBEKANNTER GIFTE DES CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE, IHRE BEDEUTUNG FÜR DAS KLINISCHE BILD DER ERKRANKUNG SOWIE DIE ANTITOXISCHE THERAPIE UND IMPFPROPHYLAXE

Habilitationsschrift

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der Venia legendi

für das Fach der Kinderheilkunde

vorgelegt von

Dr. med. Heinz Niggemeyer

Würzburg 1954

Jahrbuch für Kinderheilkunde

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Annales Paediatrici
International Review of Pediatrics — Revue Internationale de Pédiatrie
Jahrbuch für Kinderheilkunde
Redactor: E. FREUDENBERG-Basel

Basel (Schweiz) S. KARGER New York

Separatum Vol. 185, No. 1/2 (Juli/August 1955) Printed in Switzerland

Niggemeyer, H.: Ann. paediat. *185*, 1—60, 1955

(Aus der Universitäts-Kinderklinik Würzburg [Direktor: Prof. Dr. J. Ströder].)

Der Nachweis bisher unbekannter Gifte des Corynebacterium diphtheriae, ihre Bedeutung für das klinische Bild der Erkrankung sowie die antitoxische Therapie und Impfprophylaxe *.

Von HEINZ NIGGEMEYER.

Für das Verständnis der schon seit langem bekannten Tatsache, daß eine gewisse Verlaufsform der Diphtherie unter dem klinischen Bild einer schweren Vergiftung auftritt, war der Nachweis einer toxischen Komponente in Kulturfiltraten von Klebs-Löffler-Bazillen durch *Roux* und *Yersin* wie *Brieger* und *Fränkel* bedeutungsvoll. Dieses Gift verursachte im Tierversuch die lokalen Veränderungen des infektiösen Prozesses (mit Ausnahme der fibrinösen Exsudation) wie auch gewisse, aus dem klinischen Bild der Erkrankung des Menschen bekannte Fernwirkungen, Kreislaufkollaps und Gefäßschädigungen, Myokard- und ZNS-Veränderungen. In der Folge wurde die Auffassung vertreten, der Grad der Giftbildung und -resorption präge der Art und Verlaufsform der diphtherischen Erkrankung ihren Stempel auf. Die Diphtherie wurde jetzt nicht mehr, wie noch bei *Gerhardt* niedergelegt, als allgemeine Infektionskrankheit, sondern als Musterbeispiel eines lokalisierten infektiösen Prozesses mit Toxin-Fernwirkungen betrachtet.

Ein großer und einschneidender Fortschritt in der Erforschung des Wesens der diphtherischen Erkrankung erfolgte mit der Entdeckung des Diphtherie-Antitoxins durch *Emil v. Behring*. Der Bedeutung der Giftbildung für das Ausmaß der klinischen Erkrankung trat die spezielle Abwehrfähigkeit des Makroorganismus als faßbares antagonistisches Prinzip zur Seite. Wenn *Behring* selbst in ersten Publikationen das antitoxische Serum als rein prophylaktisch wirkend darstellte, so war er — gestützt auf die Ergebnisse klinischer Prüfung — bald in der Lage, den Indikations-

* Herrn Prof. Dr. med. et phil. *S. J. Thannhauser*, Boston, zu seinem 70. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

2. März, 1966

bereich weiter zu ziehen und das neue Pharmakon wegen seiner auch bei ausgebrochener Erkrankung günstigen Wirkung als Heilserum zu bezeichnen.

In epidemiologischer Hinsicht lagen damals örtlich stark wechselnde Verhältnisse vor. Die umschriebenen Diphtherie-Epidemien verliefen nicht synchron. Für manche Orte ergeben sich eindeutige Beziehungen des Abfalls der Letalität wie auffälligerweise auch der Morbidität zum Zeitpunkt der Einführung der neuen antitoxischen Therapie. Aber auch ohne das neue Heilverfahren konnte in anderen Regionen gleiches beobachtet werden. Umgekehrt wurde aus einigen Städten trotz fast genereller Durchführung der Serotherapie eine Zunahme der Krankheitshäufigkeit und -sterblichkeit gemeldet (siehe *de Maurans, Gottstein, Kassowitz,* und demgegenüber *Spranger*). Ausgedehnte alternierende Versuche sind bei der Einführung des Heilserums leider — mit wenigen Ausnahmen — versäumt worden. Aus der damaligen Zeit liegen nur einige hier einschlägige Berichte vor (*Fibiger* 1898, *Roux, Martin* und *Chaillou* 1894). Beobachtungen von *Bertin* wie *Lorey* machten nach *Rolly* neue Untersuchungen notwendig, die später von *Bingel* durchgeführt wurden, aber auf Grund der bestehenden unglücklichen Konstellation — auch jetzt kann in Deutschland wegen bindender rechtlicher Verordnungen das Problem nicht erneut aufgegriffen werden — nicht die gebührende Anerkennung fanden.

An einer Grundtatsache kann jedoch nicht gerüttelt werden: *Das Heilserum der ersten Zeit war mit Sicherheit nicht in der Lage, schwere und fortgeschrittene Fälle diphtherischer Erkrankung vor einem tödlichen Ausgang zu schützen!*

Die Bestrebungen, durch abundante Steigerung der Antitoxinmengen bessere Resultate zu erzielen *(Madsen),* sind praktisch ergebnislos verlaufen (*Zischinsky, Lichtenstein, Paschlau* und *Sudhues, Hottinger* u. a.). *Schick, Kassowitz* und *Busacchi* bezogen in exakter Weise die Serumdosis auf Kilogramm-Körpergewicht. Über die «Mammut»-Dosierung (*Greve, Place,* bis 500 000 AE) äußert sich demzufolge *Schick:* «Das maßlose Hinauftreiben der Serumdosis ist Gefühlsdosierung und experimentell, und man kann auch sagen klinisch nicht von erweislichem Nutzen.» Die Vernachlässigung der schon von *Escherich* gezogenen Schlußfolgerung, daß lokalisierte Formen der Diphtherie keine, septische Formen nur eine ganz geringe, und progressive eine deutliche Besserung des Heilungsprozesses durch Serum erfahren, fand seinen Niederschlag in der medizinischen Literatur in einem grotesk anmutenden Phänomen: Der Forderung des Klinikers nach einem auch bei maligner Diphtherie besser wirkenden Serum wurde von dem Serologen durch enorme Steigerung des Antitoxingehaltes der Handelspräparate stattgegeben. Geliefert wurde Quantität, wo Qualität er-

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

wünscht war. Der Erfolg am Krankenbett mußte erwartungsgemäß ausbleiben.

Indes war durch die grundlegenden Arbeiten von *Ehrlich* das Serum zuverlässig standardisiert worden. Die antitoxische Einheit ist seither ein festumrissener Begriff und in der Folge Maßstab der Serumwirkung. In Frankreich berücksichtigte *Roux* zwei verschiedene Gesichtspunkte, indem neben der Prüfung des Antitoxingehaltes die Schutzwirkung gegenüber der erfolgten Infektion (titre antimicrobien) getestet wurde. Somit konnte über den Antitoxingehalt eines Handelspräparates kein Zweifel mehr bestehen. *Und dennoch wurde an seiner Wirksamkeit Kritik geübt.*

Dies geschah verständlicherweise stets, wenn Diphtherie-Endemien einen besonders malignen Verlauf nahmen, sich Todesfälle auch bei Serumgabe schon am ersten Krankheitstage häuften, und der behandelnde Arzt auf Grund eigener Erfahrung zu einer pessimistischen Beurteilung der Heilwirkung des ihm zur Verfügung stehenden antitoxischen Serums kam (*Deicher* und *Agulnik, Hottinger, Seckel, Zischinsky* u. a.). Es erhob sich die Forderung nach einem aviden *(Kraus)* oder gar gleichzeitig antibakteriell wirkenden Serum *(Roux, Cruveilhier).* Tierexperimentelle Untersuchungen berechtigen entgegen *Kolle, Joseph* und *Schloßberger* zu der Hoffnung, daß wenigstens die erste dieser beiden Forderungen erfüllbar wäre *(Glenny, Pope* und *Waddington, Madsen* und *Schmidt).* Zu einer Umsetzung in die Praxis ist es nie gekommen.

Als richtig ist aus der Wirrnis des Problems hervorzuheben: Die ursprüngliche Auffassung *Behrings* über das Prinzip des antitoxischen Serums als fast sichere Prophylaxe gilt noch heute. Auch kann nicht bestritten werden, daß dieses antitoxische Prinzip unter einer sich entwickelnden diphtherischen Infektion den Effekt eines weitere Vergiftung verhindernden und damit unter Umständen heilenden Pharmakons besitzt. Mit einigem Grund aber wurde dies für das dem Arzt in der ganzen Welt zur Verfügung stehende monovalente sogenannte Diphtherieserum bezweifelt, was auch den Feststellungen von *H. Schmidt* (1949) zum Problem des sogenannten O'Meara-Serums unschwer entnommen werden kann.

O'Meara beruft sich auf die Frühzeit der Serotherapie unter Hinweis auf *Roux, Martin* und *Chaillou* wie *Ehrlich, Kossel* und *Wassermann,* analysiert deren Berichte und weist hieraus eine ausgezeichnete Wirksamkeit der damaligen Serumpräparate auch gegenüber der toxischen Verlaufsform nach. Auf dieser Theorie fußt die Konzeption *O'Mearas.* Nur schwer allerdings läßt sich dies mit der Feststellung *J. v. Bokays* am 27. 10. 1894 in Einklang bringen: «Nach meinen bisherigen Erfahrungen ist die Heilserumtherapie in jenen Fällen der Diphtherie, wo die Erkrankung von Anfang an septischen Charakter zeigt, wirkungslos; dies wurde übrigens schon im Jahre 1893 von *Behring* selbst hervorgehoben ...» Mit der Frage nach der Berechtigung der *O'Mearas*chen

Lehre wie mit dem Problem der Diphtheriebazillensepsis im weitesten Sinne — und nur mit septischen Erscheinungen durch Diphtheriebazillen haben wir es, wenn überhaupt, zu tun — werden wir uns noch befassen.

Die Unmöglichkeit, klinische Erfahrungen mit Laboratoriumsbefunden wie bakteriologischen und serologischen Daten in einen völligen Einklang zu bringen, mußte zu einer bedauerlichen Dissonanz führen. Das Hauptarbeitsfeld des Bakteriologen und Serologen wurde bald durch die Bemühung bestimmt, die Giftproduktion des Corynebacterium diphtheriae zu erhöhen, in vivo und in vitro neue verbesserte Meßmethoden einzuführen und besonders eiweißarme Immunsera von hohem Antitoxingehalt zu erzeugen. Die Mehrzahl der klinisch tätigen Ärzte hielt zwar, und mit Recht, das Prinzip des antitoxischen Serums für richtig, konnte sich aber der Tatsache seiner unzureichenden Wirksamkeit bei Fällen maligner Diphtherie nicht verschließen. Somit war es nicht verwunderlich, daß Konstitution und Umwelt — Faktoren also, die über dem Beginn der bakteriologischen Aera in ihrer Wichtigkeit unterschätzt worden waren — erneut im Hinblick auf die verschiedenen Verlaufsformen der diphtherischen Erkrankung in den Vordergrund traten. Die krasse Formulierung durch *Kißkalt* ist hiefür beispielhaft: «Wenn wir von den Erregern nichts wüßten und von der Disposition so viel wie jetzt von den Erregern, wären die Seuchen besser erforscht als heute.» Andere sahen die Phänomene von mehr bakteriologischer Warte aus und glaubten, wechselnde Massivität des Infektes bzw. Schnelligkeit des Erregerwachstums und den Grad der Giftbildung als das eigentliche Movens des Leidens anschuldigen zu müssen. Hierher gehören auch die viel vertretenen Hypothesen über besondere Schnelligkeit der Giftbildung und -bindung ans Gewebe bzw. die mangelnde Avidität des modernen Antitoxins zum Diphtherietoxin. *Hottinger* hat in seinem neuen Handbuchartikel eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten pathogenetischen Momente zu geben versucht:

«*Die Pathogenese der Diphtherie ist nach* Ströder *die Lehre von den Ursachen des Entstehens verschiedener klinischer Erscheinungs- und Verlaufsformen dieser Krankheit.* Verschiedene Faktoren müssen zusammenwirken, damit es zur Krankheit kommt. Allgemeine und spezielle biologische Eigenschaften des Erregers, Invasionsvermögen, Toxinbildung usw., je nach Gruppe und Typus, sind die wichtigsten Momente. Vielleicht treten Hilfsfaktoren dazu, z. B. die ‚Substanz B', gewisser Toxine, Spreadingfaktoren im Nasensekret, Parotisspeichel usw. Diese können bei dem Zustandekommen bestimmter Krankheitsformen eine Rolle spielen. Ebenso ausschlaggebend wie Erreger

und äußere Hilfsmomente ist aber auch die allgemeine und spezielle Reaktionsfähigkeit der menschlichen Gewebe bzw. die Leistungen und Regulationen des Organismus unter dem Einfluß von Disposition, Konstitution und eventueller vorausgegangener Erregerkontakte (Sensibilisierung und Immunisierung).»

In Anlehnung an *Hottinger* wäre demgegenüber die Schulmeinung in zwei Sätzen zusammenzufassen: *Das von den Diphtheriebazillen abgesonderte Toxin ist bei allen Stämmen identisch und verursacht die Krankheitserscheinungen. Die Heilung bzw. Verhütung der Krankheit erfolgt durch die Neutralisierung des Toxins vermittels eines in seiner Wirkungsweise grundsätzlich bei Mensch und Tier identischen Antitoxins.*

Der ganzen Unzufriedenheit des Klinikers mit dieser zuletzt aufgezeigten These wurde von *Geiger* und *Marshall* erst jüngst in einer an Zynismus grenzenden Darstellung Ausdruck verliehen: «The picture of diphtheria in the textbook is drawn with the sharpness of a steel engraving ... There is a discrepancy between textbook and fact in characterization of the disease ... These discrepancies are no fuzzy errors at the borderlines of measurements : they are precisely opposed to the ideas of the textbook and, since they cannot be denied as facts, they must be met by revision or reconsideration of the textbook. It has either been wrong for a long time or we have not read it correctly». Auch der von unzweifelhaft berufener Seite gegebene monographische Bericht über eine Epidemie in Newcastle und Gateshead (*Hartley* u. Mitarb.) ist mit der Lehrmeinung in keiner Weise in Einklang zu bringen.

Die schon seit langem bekannte Tatsache, daß gewisse Altersgruppen zu bestimmten Erkrankungsformen der Diphtherie prädestinieren, Umwelteinflüsse im weitesten Sinne des Wortes (Klima, soziale Lage, somit Ernährung und Wohnverhältnisse, vorhergehende und interkurrente Infekte), das Geschlecht, die Rasse und vor allem die Besiedlungsdichte eines befallenen Gebietes maßgebliche Faktoren darstellen, ist wohl wie bei keiner anderen Infektionskrankheit — mit Ausnahme vielleicht der Tuberkulose — bearbeitet und sichergestellt worden. Ein Versuch der Wertung auf Grund einer Analyse von 6951 Erkrankungsfällen an Diphtherie unter Berücksichtigung der wesentlichen Schrifttumsergebnisse wurde von *Niggemeyer* als Beitrag zum Problem der Pathomorphose der Diphtherie durchgeführt. Die Konsequenz dieser Untersuchungen war, daß primär durch endogene und exogene Faktoren — nicht zuletzt häufigen Erreger-

kontakt — bedingte Änderungen in der Reaktionslage großer Bevölkerungskreise sekundär zu Verlust und Neuerwerb von Fähigkeiten bzw. einer Zuchtauswahl bei Erregerstämmen führen. Möglicherweise entsteht aus dem Wechselspiel beider Erscheinungen die Pathomorphose der Diphtherie. Sie kann bei Angleichung der befallenen Populationen an vom Erreger neu erworbene Eigenschaften zu ihrem epidemiologischen und klinischen Ausgangspunkt zurückkehren. Dieses Ergebnis weist eindeutig darauf hin, daß das Problem der verschiedenen klinischen Verlaufsformen der Diphtherie von zwei Seiten, nämlich von den Erregerfähigkeiten und Infektionsmechanismen her wie auch vom Gesichtspunkt der Abwehrreaktionen und Regulationsstörungen des Makroorganismus erneut aufgegriffen werden mußte.

Während früher eine Abwandlung von Erregereigenschaften — wenigstens im Experiment — nur im Sinne des Virulenzverlustes, d. h. in Richtung von Gravis- zu Mitisformen oder zu apathogenen Organismen beobachtet wurde (*Dold* und *Weigmann, Dudley, Weigmann* und *Koehn, Pesch, Knox, Bingel* u. a.), konnte *Wildführ* Typenmodifikation der umgekehrten Art durch langdauernde Passagen über hochimmunisierte Versuchstiere gewinnen. Dies ist gewissermaßen ein Modellbeispiel für den Beitrag des Erregers zur Pathomorphose der Diphtherie in seinem interferierenden Lebenskampf unter der Durchseuchung und Immunisierung großer Bevölkerungskreise.

Nun ist eine teleologische Betrachtung zwar scheinbar einleuchtend, aber ihr haften viele Mängel an. Die Giftbildung ist für das Corynebacterium diphtheriae, was das klassische von *Roux* und *Yersin* dargestellte Prinzip angeht, keine Lebensnotwendigkeit.

Auf Grund der bis heute gewonnenen Erkenntnisse über die Bedingungen zur Toxinproduktion kann das klassische Toxin als Bestandteil eines adaptiven Enzym-Systems des Diphtheriebazillus unter ungünstigen Stoffwechselbedingungen — bei relativem Eisenmangel — angesehen werden. Die von uns gemachte Beobachtung über fehlendes Toxinbildungsvermögen sonst typischer Diphtheriestämme trotz guten Wachstums bei Fe-Defizit schränkt diese Hypothese ein. Offen bleibt für uns, unterhalb welchen Eisengehaltes des Nährmediums von einem Mangel gesprochen werden kann. Die Zusammenstellung eines sicher eisenfreien Mediums aus organischem Material ist uns nicht gelungen. Das Problem wäre von theoretischem Interesse im Hinblick auf die folgende Feststellung: Aus einem toxigenen Exemplar des Corynebacterium diphtheriae konnten toxigene und atoxische Varianten gezüchtet werden *(Crowell)*. Auf eine Beziehung zwischen Wachstumsintensität und Toxinbildung

des Erregers darf — und hierauf hat *Doerr* eindringlich hingewiesen — nur soweit geschlossen werden, als toxigene Stämme in geeignetem Milieu entsprechend der größeren Zahl der vorhandenen Exemplare mehr Toxin bilden können. Hierbei ist entgegen früheren Theorien *(Brieger* und *Fränkel, Dernby* und *Walbum)* der Diphtheriebazillus selbst als Ort der Giftbildung nachgewiesen *(Eisler* und *Kovacs, Eisler, Prigge, Morton* und *Gonzalez).* Bei Übertragung von in vitro gewonnenen Ergebnissen auf natürlich vorkommende Erscheinungen muß berücksichtigt werden, daß im Kulturmedium Toxinabscheidung aus den Mikroorganismen in Form eines Stoffwechselproduktes oder im Rahmen nekrobiotischer oder autolytischer Vorgänge mit Toxinzerstörung durch Luftsauerstoff und freiwerdende bakterielle Proteasen interferiert. Auf Untersuchungen von *Pappenheimer, Pappenheimer* und *Hendee* über die mögliche Synthetisierung von freiwerdendem Toxin in Gegenwart von Porphyrin und Eisen zu einem für den Erreger wichtigen Enzym wurde schon hingewiesen. Nach unseren Befunden wird in eisenreicheren Medien von den Diphtheriebazillen eine größere Menge dieses Metalles aufgenommen, die beim autolytischen Prozeß erneut zur Verfügung steht. Hier dürfte vielleicht die Erklärung für die bekannte Tatsache des Verschwindens von vorhanden gewesenem Toxin in Gegenwart lebender Erreger in alten Kulturmedien *(Schmidt, S.,* und *Fjord-Neelson)* zu suchen sein. Gewissermaßen scheint sich so neben durch Stoffwechselprodukte bedingter Wachstumshemmung eine den natürlichen Lebensbedingungen des Mikroorganismus entsprechende Korrelation zwischen Eisennachfrage und -angebot einzustellen.

Die Verhältnisse in vivo sind kompliziert durch den natürlichen, aktiv tätigen und eigenwilligen, nicht genau zu definierenden Nährboden «lebende Schleimhaut». Schlußfolgerungen können nur über Deduktionen, zum Teil auf dem trügerischen Boden der Konstatierung eines Zustandes und Ausweitung des Einzelbefundes auf ein dynamisches Geschehen erfolgen. Es läßt sich nicht vermeiden, Aussagen unter Rückgriff auf In-vitro-Verhältnisse zu stützen.

Ausreichende Lebensbedingungen für den Erreger sind die erste Voraussetzung für das Haften eines Infektes. Die Reaktion des lebenden örtlichen Milieus und die Fähigkeiten des Saprophyten, durch Schädigung dieser seiner Umwelt weiteren Nährboden aufzuschließen, sind ausschlaggebend für die Bedeutung, die dem Corynebacterium diphtheriae in diesem komplizierten Gast-Wirt-Verhältnis für den Makroorganismus zukommt. Vom Kommensalismus bis zu einem den Wirt vernichtenden Parasitismus ist jede Abstufung denkbar. Fördernde und hemmende Momente in beiden Richtungen sind dem Kliniker bekannte Begriffe. Örtliche Schleimhautschädigungen wechselnden Grades und verschiedenster Ursachen sind von großer Bedeutung. Beim Versuchstier ist das Schleimhauttrauma eine conditio sine qua non für das Haften der Infektion. Diphtherische Komplikationen operativer Eingriffe im Bereich des Nasen-Rachen-Raumes sind bekannt und gefürchtet. Die bedeutsame Rolle gewisser, die allgemeine und lokale Resistenz schwächender Vorkrankheiten, unter denen die Morbillen weitaus an der Spitze stehen, muß hervorgehoben werden.

Hierher gehört auch das in der Literatur in weitestem Rahmen und mit beispielloser Erbitterung diskutierte Problem des sogenannten Mischinfektes (siehe *v. Bormann, Finkelstein* und *Königsberger, Königsberger, Artigas, Stroé* und *Hortopan, Doskocil, Dold,* u. a.). Begleiterreger können pro- und antibiotische Eigenschaften besitzen, dementsprechend wenig virulenten Diphtheriebazillen zur manifesten Infektion verhelfen, und dies gilt natürlich auch in umgekehrter Beziehung *(Weigmann* und *Hölzl, Horsters* und *Sasse, Lesbre* und *Nerle, Updyke* und *Frobisher).* Eine luetische Coryza des Säuglings wird häufiger mit Diphtheriebazillen besiedelt gefunden *(Kliewe* und *Hofmann)* als die normale Nasenschleimhaut eines gleichaltrigen Kindes. Der durch weniger pathogene Diphtheriestämme verursachte Schaden wird zwar summierend zu anderen Leiden hinzutreten, aber in der Grundkrankheit untergehen, wie auch aus Befunden von *Seligmann* und *Schloß, Conradi* und vor allem der französischen Schule *(Marfan)* zu entnehmen ist. Ausgesprochene Wachstumshemmung des Corynebacterium diphtheriae durch gewisse Staphylokokken der Schleimhaut ist beschrieben *(Lesbre* und *Nerle).* Unzweifelhaft fördern alle Erreger, die selbst wie ihre Stoffwechselprodukte das Wachstum des Corynebacterium diphtheriae nicht wesentlich hemmen, aber den örtlichen Nährboden aufzuschließen vermögen, das Haften des diphtherischen Infektes. Mit anderen Worten, der Pace-maker-Dienste leistenden traumatischen, sei es auch thermischen oder chemischen Schleimhautschädigung tritt die unspezifische bakterielle Noxe gleichberechtigt zur Seite, ja, ihre praktisch klinische Bedeutung überwiegt.

Diese Feststellungen dürfen indes nicht zu dem Trugschluß verführen, das Problem des Haftens des diphtherischen Infektes sei so erschöpfend gelöst. Sicher können auch nur im Verhalten des Makroorganismus begründete Modalitäten zur manifesten diphtherischen Erkrankung führen und deren Verlauf wesentlich beeinflussen (siehe *Hamburger*). Im Tierexperiment wie bei der Testung am Menschen konnte dies vielfach gezeigt werden.

An neuere Untersuchungen zum Problem des unspezifischen Spreading-Effektes *(Dieckhoff, Sohier* und *Demarchi, Niggemeyer, Ströder* und *Niggemeyer, Krech)* und der metadiphtherischen neurologischen Komplikationen *(Ströder* und *Niggemeyer, Niggemeyer* und *Dubrauszky)* sei hier erinnert. Den Einfluß des neurohormonalen Systems verdeutlichen die Befunde von *Tonutti.*

Die von *Ströder* aufgestellte und im Tierexperiment wie am Krankenbett bewiesene Hypothese von der anaphylaktoiden Reaktion als pathogenetischem Moment hat sich als fruchtbar und in der Übertragung auf die Verhältnisse am kranken Menschen als zu therapeutischen Fortschritten führend erwiesen.

Konnte gezeigt werden, daß Hilfsmechanismen aus den verschiedensten Bereichen das Haften eines diphtherischen Infektes und das Manifestwerden der Erkrankung begünstigen, so scheinen

alle diese Momente an Bedeutung zu verlieren, wenn besonders virulente Erregerstämme des Klebs-Löffler-Bazillus selbst alle Voraussetzungen zum Parasitismus besitzen.

Dies war die Regel in den grauenhaften Epidemien des 19. Jahrhunderts *(Bretonneau, Trousseau, Gottstein, Heubner, Prinzing, de Maurans)* und gilt auch noch jetzt für das gehäufte Vorkommnis maligner Erkrankungsfälle. Die Steigerung des Kontagiosităts indexes *(Hottinger, Langer),* das Zurücktreten der lokalisierten und progredienten Diphtherieformen und zunehmende Letalität sind warnende Vorzeichen. Aus schon dargelegten und weiter unten experimentell erhärteten Gründen kann von einer Zunahme der Morbidität — wesentlich unter dem Bild der lokalisierten und progredienten Erkrankungsformen — auf eine große Empfänglichkeit der Bevölkerung auch gegenüber weniger pathogenen Erregerstämmen geschlossen werden. Auf der Lehre *Gottsteins* und dem von *de Rudder* erarbeiteten Begriff der «akuten Zivilisationsseuchen» fußend, konnte ich nachweisen, daß die als Pathomorphose der Diphtherie bezeichnete Erscheinung nicht nur in Morbiditätswellen verläuft, sondern — was die Erkrankungsformen und ihre Beziehung zur Altershäufung angeht — in einer grandiosen Kreisbewegung jeweils an ihren Ausgangspunkt zurückkehrt.

Betrachten wir den Diphtheriebazillus — dem Lehrbuch folgend — als selbstbefähigt, sich mittels seines klassischen Toxins anzusiedeln, einen lokalen infektiösen Prozeß zu verursachen und seinen Wirt zu töten, so gewinnen wir ein Bild von großer Klarheit, das aber in der rauhen Wirklichkeit der täglichen Praxis als Fata morgana zerflattert. Sogenannte Diphtheriebazillenträger können schicknegativ oder schickpositiv sein, d. h. in ihrem Blut kann Antitoxin gefunden werden oder völlig fehlen. Theoretisch können die Schleimhäute auf Grund angeborener Resistenz (bei unseren Versuchstieren ist dies der Fall) oder gewebsgebundenen, nicht humoralwerdenden Antitoxins geschützt sein. Befunde von *D'Antona* wie *Mariani* über erhöhte Antikörperwerte in Herdnähe und den regionalen Lymphknoten *(McMaster* und *Kidd)* im Tierexperiment stützen diese Theorie. Die Tatsache aber, daß Menschen mit hohem Blutantitoxingehalt an manifester Diphtherie erkranken können, widersetzt sich einer Erklärung des diphtherischen Geschehens nur vom Standpunkt der klassischen Toxinlehre. Immerhin könnte ein solch hoher Blutantitoxinspiegel durch die experimentell bewiesene rasante Antitoxinbildung im Sinne der potentiellen Immunität erklärt werden. Aber in der Literatur sind Berichte über diphtherische Erkrankungen trotz nachweislich vorher vorhandenen Antitoxins niedergelegt (siehe *v. Bokay, Hottinger,* die Zusammenstellung von *Zironi* und vor allem *Hartley* u. Mitarb.). *Hottinger* zeigte, daß vorhandenes Blutantitoxin bei

folgender diphtherischer Erkrankung durchaus nicht immer — wie bei potentieller Immunität zu erwarten — sich in schneller Folge vermehrt, sondern auch die paradoxe Reaktion, d. h. die negative Phase, zur Beobachtung kommt. Die überspitzte Folgerung, das Wesen der Erkrankung in einem diphtherotoxischen Prozeß, hervorgerufen durch das klassische Gift (Toxin A *O'Mearas* und nach ihm der wesentliche Wirkstoff des PW8-Stammes) sehen zu wollen, ist somit unhaltbar geworden. Aber selbst das einmalige Ereignis der Erkrankung an Diphtherie bei gesichertem Blutantitoxingehalt statt der vorliegenden größeren Zahl von Beobachtungen — und hierin pflichtet *Doerr Zironi* bei — hätte ausgereicht, den Glauben daran zu erschüttern, daß nur Individuen an Diphtherie erkranken, die kein Antitoxin im Blut haben. Man tut gut daran, die Bedeutung des Antitoxins in vorliegender Form für den Heilungsprozeß entsprechend vorsichtig einzuschätzen. Nach *Kleinschmidt* ist unter natürlichen Bedingungen Antitoxin im Verlauf der diphtherischen Erkrankung ein (inkonstantes) Nebenprodukt des Heilvorganges, für die Heilung selbst aber belanglos!

Der Versuch, sogar die verschiedenen klinischen Verlaufsformen wesentlich aus der Aktion des PW8-Toxins und der spezifischen Abwehr des Makroorganismus erklären zu wollen, ist unzulänglich. Hilfshypothesen aus dem Bereich der Konstitutions- und Allergielehre wurden herangezogen und mit zum Teil überzeugenden Argumenten verfochten *(Hirszfeld* u. Mitarb., *Moggi, Seckel, Koschate, Böhning, Hofmeier).* Diese sind auch jetzt noch nicht als erledigt zu betrachten (siehe *Ströder).* Die von den alten Ärzten aus dem klinischen Bild entwickelte Auffassung, die Diphtherie sei eine primäre bazilläre Sepsis oder Allgemeinerkrankung mit sekundärer Ausscheidungsangina, wurde von *Jürgens* beibehalten, konnte von *Gins, Clauberg* u. Mitarb., *Gundel* und *Erzin* durch Hypothese und Experiment gestützt werden und ist neuerdings von *Paschlau, Wildführ* und *Krause* wieder in den Vordergrund gerückt worden. Das Vorkommen einer diphtherischen Bakteriämie und Absiedlung in innere Organe ist unbestritten. Für die Pathogenese bedeutungsvoll sind von *Kirch* gefundene Unterschiede zwischen Croup und toxischer Diphtherie und Zusammenhänge von Erregertyp und Invasionsvermögen *(Goliborska* u. Mitarb., *Zinnemann* und *Zinnemann).* Der Vorgang — vervollständigt durch den Begriff des Tropismus — benötigt geradezu differente Erregereigenschaften zur Erklärung des Wesens verschie-

dener Verlaufsformen des Krankheitsbildes. Die Bedeutung des Mischinfektes wurde bereits umrissen. Die tatsächlich erfolgte Identifizierung der Mischinfektion mit der septischen Diphtherie der alten Klinik zeugt nur von Unkenntnis des früheren Begriffsinhaltes (siehe *Marfan*).

Unter Hervorhebung der Charakteristica können drei stark divergierende klinische Verlaufsformen der Diphtherie (Escherich-Seckel-Schema) unterschieden werden:

1. Die streng lokalisierte diphtherische Schleimhautveränderung ohne Ausbreitungstendenz und mit geringer Neigung zu toxischen Zügen.

2. Die progrediente, d. h. auf der Schleimhautoberfläche fortkriechende fibrinöse Entzündung.

3. Der den Schleimhautbereich durchbrechende, tiefergreifende Prozeß mit den Allgemeinsymptomen der toxischen Diphtherie.

Fließende Übergänge — von *Koch* bestritten — sind möglich, aber durchaus nicht die Regel. Ihre Erklärung finden sie zum Teil in Erregereigenschaften. Eine vorhandene Flora des Corynebacterium diphtheriae besteht nicht aus identischen Organismen, was letztlich am Beispiel der Toxinbildungsfähigkeit schon gezeigt wurde. Eine Elektion unter dem Krankheitsprozeß ist wahrscheinlich, der Tatbestand des Typenwechsels wurde erhoben und die Erklärung durch stationär erfolgte Superinfektion *(Aufdermauer* und *Zellweger)* ist für Epidemiezeiten einleuchtend. Aber schon die Betrachtung der Beziehung zwischen Eisengehalt des Milieus und Fähigkeit des Erregers, PW8-Toxin zu bilden, weist auf eine Unzahl anderer Möglichkeiten hin.

Es bestehen enge Beziehungen zwischen den klinischen Mißerfolgen der Serotherapie bei toxischer Diphtherie und den Schwierigkeiten, so verschieden verlaufende Krankheitsbilder mit einem einzigen toxischen Prinzip eines uniformen Erregers erklären zu wollen. Dies führte zu einem Aufgreifen der Erregerfrage. *W. Mair* fand bei einem Diphtheriebazillenträger typische Diphtheriebazillen, die — im Tierversuch virulent — befähigt waren, Meerschweinchen zu töten. Der Tod wurde durch prophylaktische Antitoxingabe mit Sicherheit verhindert. Auffälligerweise gelang es nicht, eine Hautnekrose des Versuchstieres zu unterdrücken. *Feierabend* und *Schubert* wiesen darauf hin, daß gerade die Erregerstämme von toxischen Fällen in den damaligen Nährböden zwar relativ wenig Gift bildeten, aber im Tierversuch sich als

hochgradig virulent erwiesen und besonders starke Lokalreaktionen erzeugten. Solche Feststellungen haben weniger Beachtung gefunden, als ihnen ihrer Bedeutung nach hätte zukommen sollen. Die besonderen Eigenschaften der Erreger gingen bei Kulturpassagen bald verloren. Die Autoren deuteten in Übereinstimmung mit *Debré, Ramon* und *Thiroloix* die beschriebene Fähigkeit als Zeichen erhöhter Virulenz.

Aus diesen Erfahrungen läßt sich entnehmen, daß hier der Begriff Virulenz — gemessen am Tierexperiment — zwar schwer zu ersetzen, aber außerordentlich unglücklich ist. Unter Virulenz wird die Fähigkeit von PW8-Toxin bildenden Diphtheriebazillen verstanden, in einem je nach der Technik manchmal schon Toxin enthaltenden Milieu dem Versuchstier injiziert, dieses in einem gewissen Zeitraum zu töten. Demgegenüber müssen mit Antitoxin vorbehandelte Kontrollen überleben. Offensichtlich handelt es sich um ein sehr komplexes Geschehen. Die einzige sichere Aussage dieses Virulenztestes ist — toxinempfindliche Tiere vorausgesetzt —, daß diese einer Giftbildung vom PW8-Typ erlegen sind. Unter günstigen Bedingungen besagt der Test also: Inokulierte Diphtheriebazillen können im tierischen Organismus PW8-Toxin bilden. Die Frage nach dem Grad der echten Infektiosität des Erregers dem Menschen gegenüber bleibt unbeantwortet, da Spontanerkrankungen der Versuchstiere an Schleimhautdiphtherie praktisch unbekannt sind.

Wiederum stehen wir vor dem Problem: Wie kommt es zum Haften und Pathogenwerden des diphtherischen Infektes? Die lokale Schädigung ist eine Prämisse für die Erzeugung einer diphtherischen Schleimhauterkrankung des Versuchstieres. *Bieling* und *Oelrichs* wollen glaubhaft machen, daß der Diphtheriebazillus selbst vermittels des PW8-Toxins diese Schädigung hervorruft. Im Experiment genügte intensive Einwirkung eines hochaktiven Toxins auf die Schleimhaut, um eine Empfänglichkeit für die Einsaat von Diphtheriebazillen herzustellen. In Übereinstimmung mit *Doerr* kann man diese Auffassung aber für den natürlichen Infektionsprozeß als nicht wahrscheinlich ablehnen. Müßte doch der einzelne toxigene Mikroorganismus — von einer hochwirksamen Gifthülle umgeben — für die mindestens 8 Stunden betragende Inkubationszeit des PW8-Toxins an der gleichen Schleimhautstelle liegenbleiben. Entweder handelt es sich um andere, bisher zu wenig beachtete Eigenschaften des Erregers, sich in natürlichem Milieu zu behaupten und dieses zu schädigen, oder die Bedeutung von unspezifischen lokalen Resistenzminderungen überwiegt. Jedenfalls ist das Tierexperiment nicht geeignet, die Rolle des PW8-Toxins im Geschehen der diphtherischen Schleimhautschädigung des Menschen zu klären. Versuche von *Szirmai* er-

gaben, daß, falls man in die intakte Mundschleimhaut des Meerschweinchens in Analogie zur Schickreaktion intramucös 1/50 Dlm — also in der Haut des Meerschweinchens schon eine deutlich nekrose-erzeugende Giftmenge — einspritzt, man lokal höchstens ein mäßiges Ödem wahrnehmen kann. Auch größere Dosen bis zu 1 Dlm führten niemals zu einer Pseudomembranbildung.

Neuen Auftrieb brachten der bakteriologisch orientierten Diphtherieforschung die großangelegten Untersuchungen der Schule von Leeds (*Anderson* u. Mitarb.). Schon *Hammerschmidt* hatte eine brauchbare Gruppeneinteilung gefunden. Aber jetzt konnten drei durch Wuchsformen und fermentatives Vermögen unterscheidbare Gruppen als wesentlich herausgestellt werden. Die Verknüpfung mit klinischen Erscheinungsformen der Diphtherie erfolgte durch statistische Methoden (*Cooper* u. Mitarb.). Bei lokalisierter Diphtherie und Diphtheriebazillenträgern wird häufiger die Mitis-Variante gefunden, bei schweren toxischen Formen der Typ Gravis, während die progredienten und zu endothorakalen Verlaufsformen führenden Krankheitsbilder mehr dem Intermedius-Typ zugeschrieben werden. Befunde von *Parish* u. Mitarb., *Hilgers* und *Thoenes, Timmermann* u. Mitarb., *Otto* und *Mittag, Haase* u. a. belegen nur, daß aus Häufigkeitsverteilung gewonnene Erfahrungen nicht dogmatisch auf den Einzelfall übertragen werden dürfen. Natürlich kann auch eine Mitis-Infektion das Krankheitsbild der toxischen Diphtherie hervorrufen! Andererseits wurden Gravis-Formen bei Bazillenträgern und harmloseren lokalisierten Erkrankungen vor allem im Säuglings- und Kleinkindesalter gefunden *(Paschlau).* Dies scheint eine bei maßvoller Wertung der Zusammenhänge durchaus überbrückbare Diskrepanz zu sein. Die verschiedenen in Aktion tretenden und interferierenden Mechanismen dürfen nicht außer acht gelassen werden. Das klassische PW8-Toxin als der bestimmende Faktor ist selbst bei unstreitigem Bestehen einer großen Variationsbreite der In-vitro-Toxinbildung für alle Stämme der verschiedenen Wuchsformen, vom völligen Fehlen dieser Fähigkeit bis zur Möglichkeit des enorm schnellen Übertrittes dieses Produktes ins Nährmedium, eine unbefriedigende Erklärung für divergierende Verlaufsformen der Krankheit. Einleuchtender ist es, die Ursache bei der oben angeführten, statistisch gesicherten Koinzidenz bestimmter Wuchsformen des Erregers mit ihren unterschiedlichen Leistungen und klinisch zu trennenden Krankheitsbildern zu suchen.

O'Meara hat unter Anwendung der «Waschwasser-Giftmethode» eine besondere Fähigkeit der Gravisstämme aus toxischen Diphtherien nachgewiesen. Das bakterienfreie Waschwasser einer Abschwemmung von 48 Stunden bewachsenen Löffler-Platten erzeugte bei intrakutaner Injektion am Meerschweinchen eine wesentlich von der klassischen Toxinwirkung abweichende Reaktion. Vor allem verblüffte der schnelle Eintritt der lokalen Veränderung gegenüber der gesetzmäßigen Mindest-Inkubationszeit des PW8-Toxins. Zur Unterscheidung bezeichnete *O'Meara* den wirksamen Stoff des PW8-Toxins als Meerschweinchen-Letalfaktor oder Toxin A, das nicht näher definierte wirksame Prinzip — also das Waschwassergift — als Toxin B. Eine nachträgliche Analyse der Befunde von *Mair* wie *Feierabend* und *Schubert* berechtigt zu der Annahme, daß das von ihnen beobachtete und als Virulenzzeichen gewertete Phänomen der Toxin B-Wirkung zuzuschreiben ist. Eine Kombination des Toxins B mit dem A-Prinzip änderte die durch Toxin A-Wirkung bestimmte Überlebenszeit des Versuchstieres allenfalls im Sinne einer Verlängerung derselben. Erscheinungen am Ort der Injektion traten enorm hervor (stark sulzige Oedembildung), Nebennierenbefunde waren weniger imposant, Lähmungen bei überlebenden Tieren häufiger.

Der deutlich ausgeprägte Spreading-Effekt des Toxin B ließ *O'Meara* annehmen, daß der Wirkstoff Hyaluronidase-Charakter besitze. Entgegen *Galeotti-Flori,* der mit Rohextrakten aus Meerschweinchenhoden arbeitete, konnte *O'Meara* das vollständige Phänomen nicht mit Stierhoden-Hyaluronidase und Toxin A imitieren. Mucopolysaccharaseaktive Kulturfiltrate von Streptokokken zeigten mäßigen, solche von Clostridium Welchii praktisch Toxin B-Effekt. Übrigens wurde schon von *Schloßberger* die Vermutung ausgesprochen, daß bei der Diphtherie Partial-Toxine wie bei Gasbrand vorliegen könnten. Der Zusatz einer Abschwemm-Eluierung von Coli-Kulturen komplettiert Testes-Hyaluronidase zu voller Wirksamkeit *(O'Meara). Sohier* und *Demarchi* fanden ähnliche Potenzen in Parotisspeichel. *Niggemeyer* konnte später zeigen, daß grundsätzlich dieser Effekt beim Menschen auch mit Eigenspeichel zu erzielen ist und sprach die Vermutung aus, daß an der Wirkung ein mucolytisches Ferment — etwa wie im Sekret der Gl. sublingualis seit längerem bekannt *(K. Meyer)* — beteiligt sei. Die Bedeutung der lokal wirkenden Diffusionsfaktoren ohne wesentliche sonstige Nebenwirkung ist für die diphtherische Intoxi-

kation nach unserer *(Ströder* und *Niggemeyer)* wie *Krechs* Erfahrung nicht groß und unter Umständen sogar günstig. Bei der diphtherischen Infektion allerdings ist das Gegenteil der Fall. *O'Meara* sah bei Anwendung des Toxin B im Tierversuch manchmal — jedoch nicht mit der für direkte und obligate Giftwirkung wünschenswerten Zuverlässigkeit — Gefäßreaktionen, die ihn an das mögliche Vorhandensein einer dritten, kapillartoxischen Substanz denken ließen. Serologische Untersuchungen in Form des *Glenny*schen Verdünnungsversuches, somit Auswertung im Tierexperiment, zeitigten auffällige Ergebnisse: Einwirkung von Toxin B auf in der Kontrolle neutrale Toxin A-Antitoxingemische führte zu deutlicher Toxin A-Wirkung. Toxin B wird von den zurzeit im Handel befindlichen Heilseren nicht neutralisiert. Es vermag durch seine Gegenwart trotz ausreichender Menge gegen Toxin A gerichteter Antikörper, die Wirkung dieses Giftes zu ermöglichen. Die Befunde *O'Mearas* und ihre Interpretation weisen ein neues und wesentliches Moment auf, welches besser als alle bisherigen Theorien die toxische Verlaufsform der Diphtherie und die relative Insuffizienz ihrer Therapie dem Verständnis näherbringt. In den vergangenen Jahren ist also unberechtigterweise zu viel Wert auf die Gewinnung des Meerschweinchen-Letalfaktors des Corynebacterium diphtheriae und dessen Antikörper gelegt worden. Nach tastenden Vorversuchen am Kaninchen wurde unter der Leitung von *O'Meara* die Immunisierung von Großtieren gegen den neuen Faktor in einem Seruminstitut begonnen. Hierbei erwies sich das neue Toxin B *O'Mearas* als beim Großtier außerordentlich schwer zu handhaben und ungeheuer giftig. Für die klinische Erprobung standen nur sehr wenige antitoxinhaltige Präparate zur Verfügung. Immerhin konnten *McSweeney* und *O'Meara* berichten, daß die zusätzliche Gabe eines gegen Toxin B gerichteten Antitoxins Zustände schwerster toxischer Diphtherie in dramatischer Weise ändere.

Die von *O'Meara* vertretene Auffassung über den nach schlechten Erfahrungen mit Toxin B-Konzentraten bei Serumpferden einzuschlagenden Weg der Immunisierung ist verblüffend einfach: Stämme toxischer Diphtherie bilden viel Toxin B und relativ wenig Toxin A. Der PW8-Stamm bildet viel Toxin A, wenig Toxin B. Zu Beginn des Immunisierungsvorganges unter Verwendung des üblichen PW8-Toxins werden vom behandelten Tier Antikörper gegen beide Toxine gebildet. Bei Fortschreiten des Prozesses wird die Antikörperbildung gegenüber Toxin A auf Grund seiner größeren Quantität — vielleicht auch besonderen antigenen Fähigkeit — extrem ansteigen, und beim hoch-

immunisierten Tier ist kein gegen Toxin B gerichteter Antikörper humoral nachweisbar. An der relativen Unwirksamkeit des Handelsserums ist der heute übliche Prozeß der Hyperimmunisierung mit hochwirksamen PW8-Toxinen unter Vorschaltung einer Toxoidbehandlung zur Vermeidung von Tierverlusten mitverantwortlich. Ein niedrigwertiges, hochavides Serum erwies sich demgegenüber *O'Meara* als von besonderem therapeutischem Wert. Zur Stützung seiner Hypothese konnte der Autor auf die guten Erfolge der «Serum-Pioniere» hinweisen, die mit wenig valenten Seren auch bei toxischer Diphtherie Großes erreicht haben sollen. Wie schon früher aufgezeigt, stehen dem die Aussagen in diesem Punkt so unvoreingenommener Beobachter wie *v. Behrings* entgegen. Übrigens wurde die Grundlage von *O'Mearas* Lehre durch *McClean* und *Zinnemann* bestritten, von *H. Schmidt* jedoch ausdrücklich bestätigt.

O'Meara selbst war im Laufe der letzten Jahre durch Mangel an frischen Stämmen schwerer toxischer Diphtherie gezwungen, seine Untersuchungen einzustellen.

Es erhebt sich hier die Frage, ob in der historischen Entwicklung, welcher der Vorgang der Immunisierung des Serumtieres durch Verbesserung (?) der Technik unterworfen war, so einschneidende Änderungen eintraten, daß sich trotz einer derart gewichtigen Aussage wie der *E. v. Behrings* über unzureichenden Erfolg des Heilserums bei toxischer Diphtherie eine weitere Wertminderung im Sinne *O'Mearas* eingestellt haben kann.

Es genügen wenige Angaben, um die Situation zu beleuchten. Eine Dosis letalis minima der ersten, von *Roux* und *Yersin* dargestellten Kulturfiltrate betrug etwa 35 ccm! Vergleicht man diese Angabe der Autoren mit ihrem 1890 berichteten Erfolg (1 Dlm = 0,125 ccm), so ist die Richtung der Entwicklung verdeutlicht. 1896 lieferte der Stamm von *Park* und *Williams* bereits eine Dlm in

TABELLE I.
Giftwerte von Di.-Gift Nr. 7.

	Bezeichnung	bei frischem Gift	nach über 15jähriger Lagerung
Direkt tödliche Giftdosis (subkutan)	D. l. m.	0,001 ccm = 10fach	0,016 ccm = $^3/_5$fach
Indirekte tödliche Giftdosis (subkutan)	L	(0,1 ccm + 1 AE) = 10fach	(0,22 ccm + 1 AE) = 4⅓fach
Die intrakutan gerade Nekrose erzeugende Giftmenge (direkt)	D. n. m.	0,000 002 ccm = 10fach	0,000 016 ccm = $1^1/_5$fach
Die intrakutan gerade Nekrose erzeugende Giftmenge (indirekt)	L	0,1 ccm von (0,001 ccm + $^1/_{100}$ AE) = 10fach	0,1 ccm von (0,0032 ccm + $^1/_{100}$ AE) = $3^1/_{12}$fach

0,05 ccm, und mit einem Ableger dieses Stammes konnten 5000 Dlm in 0,001 ccm erzeugt werden (Angaben nach *Doerr*). Tatsächlich wurden alle Versuche darauf abgestellt, die Ausbeute an Toxin A zu steigern, und es kann mit Sicherheit ausgesagt werden, daß mit diesem Prozeß eine Zurückdrängung anderer pathogener Faktoren verbunden sein mußte.

Der zweite und nicht weniger bedeutsame Schritt lag in der Verwendung erst gealterter bzw. jod- und später formolbehandelter Präparate zur Immunisierung des Großtieres. Der Einfluß des Alterungsprozesses auf den Meerschweinchen-Letalfaktor kann einer Angabe von *H. Schmidt* (Tab. I) entnommen werden. In der Folge werden wir zeigen, welche Rolle ähnliche Vorgänge für ein anderes Produkt des C. diphtheriae spielen.

Von der Entwicklung des Immunisierungsprozesses her gesehen muß man den Argumenten *O'Mearas* beipflichten. Die derzeitigen Handelsseren können keine gegen Toxin B gerichteten Antikörper enthalten, und — was vielleicht gegenwärtig von noch größerer Bedeutung ist — die auf dem Markt befindlichen Impfstoffe vermögen keinem Kind Schutz gegenüber der möglichen Aktion eines Toxin B bei Gravis-Infektion zu verleihen. Auch im Tierversuch verhütet aktive Immunisierung mit Anatoxin (Formoltoxoid) nicht die lokale Reaktion des infektiösen Prozesses *(Pontano)*. So erscheint Erkrankung trotz hohen Blutantitoxingehaltes, erzeugt durch passive oder aktive Immunisierung, verständlicher, und selbst vereinzelte Berichte über Todesfälle bei — nach bisherigem Wissen — optimalem Impfschutz finden eine Erklärung.

Das Problem der spezifischen Therapie und Prophylaxe der Diphtherie ist auch im antibiotischen Zeitalter noch aktuell. Für die Schutzimpfung erscheint dies selbstverständlich. Bei ausgebrochener Erkrankung kann ein wirksames Antibioticum den infektiösen diphtherischen Prozeß bzw. die Infektionskrankheit Diphtherie hemmen, wird aber keinen Einfluß auf die erfolgte Vergiftung ausüben, noch weitere Schäden durch freiwerdende Gifte absterbender Erreger verhüten. Bakteriostase durch Antibiotica und Hemmung der Giftbildung können, aber müssen wohl nicht parallel gehen; zumindest ist dieser Komplex noch umstritten, wie aus der lapidaren Folgerung von *Gohar, Elian* und *Elez* zu entnehmen ist: «Terramycin is bacteriostatic in-vitro to the diphtheria bacillus, but has no protective action against infection of guinea pigs with this organism.» Das heißt aber, bei der Anwen-

dung von Antibioticis wie Diphtherie-Serum liegen insofern ähnliche Verhältnisse vor, als — und hierin kann man *Paschlau* nur beipflichten — die diphtherische Erkrankung behandelt werden müßte, ehe sie auf Grund der lokalen Affektion diagnostizierbar wird. Dies ist, von dem Ereignis der Anstalts- und Familienendemie abgesehen, eine utopische Forderung. Es sind also wesentliche erkenntnistheoretische wie praktische Gesichtspunkte, die eine weitere Bearbeitung des Komplexes dringlich wünschenswert erscheinen lassen.

In einfachster Formulierung lautet die Fragestellung: *Sind verschiedene Wuchsformen des Corynebacterium diphtheriae in der Lage, neben dem klassischen Toxin A andere, biologisch wirksame und pathogene Substanzen zu bilden?*

Abgesehen von wenigen ermutigenden Beobachtungen war die Aussicht, andere Fähigkeiten des Erregers — eine graduell verschiedene Toxin A-Bildung ausgenommen — nachzuweisen, verschwindend gering. Mit *H. Schmidt* fand eine große Zahl von Untersuchern (*Okell* und *Parish, Feierabend* und *Schubert, McLeod* und *Thompson, Anderson* u. Mitarb., *Parish, Wathley* und *O'Brien, Povitzky, Eisner* und *Jackson, Etris, Gundel* und *Erzin, Isiyama*) keine Wesensverschiedenheit der Gifte der einzelnen Erregerstämme. Jedoch hatte schon *Havens* (1920) verschiedene serologische Typen des C. diphtheriae mit dem Grad der Wirksamkeit des Antitoxins verknüpft, und trotz fehlender deutlicher Differenzen im Meerschweinchenversuch konnten *Lathrop* und *Benz* mittels der Schickprobe beim Menschen *Havens* bestätigen. Auch von *Abraham* auf Veranlassung von *H. Schmidt* und *Degkwitz* durchgeführte Testungen mit Schickgiften verschiedener Stämme sprachen in diesem Sinne. Im Tierversuch konnte *Clauberg* am gegen Gravis-Infektionen empfindlicheren Kaninchen (*Murray*) gewisse *quantitative* Unterschiede im Neutralisierungsvermögen des Standard-Antitoxins gegenüber Gravis- und Mitis-Gift nachweisen. *O'Meara* schreibt sein positives Ergebnis der besonderen Berücksichtigung des physiologischen Milieus, in dem der infektiöse Prozeß abläuft — einer vom üblichen in vitro-Versuch abweichenden O_2-Beschränkung —, zu (siehe auch *Kollath*). Er stellt fest, daß Stämme toxischer Diphtherie erst bei relativem Sauerstoffmangel das von ihm gefundene Toxin B zu bilden vermochten. Somit war klar, der ganze Komplex mußte unter besonderer Berücksichtigung dieser Erfahrungen *O'Mearas* überprüft werden.

Methodische Vorbemerkungen.

Als Nährmedien dienten neben den üblichen Blut- und Cystin-Tellur-Blut-Agarplatten die Standard I-Nährbouillon «Merck» (*Kuczinski* und *Ferner*) in einer den besonderen Bedürfnissen des C. diphtheriae angepaßten Modifikation (I) und eine aus Aminosäuren, Mineralien und Wuchsstoffen zusammengesetzte Nährlösung (II).

Nährbouillon I: 23 g des Standard I-Nährbouillonpulvers «Merck», 2 g Casein «Merck» (in wenig mit NaOH alkalisiertem Aqua redest. gelöst), 0,34 g KH_2PO_4 und 1 g Na_2HPO_4 ($2H_2O$) werden unter Erwärmen gelöst. Nach Abkühlen werden 10 ccm einer 10%igen $CaCl_2(2H_2O)$-Lösung hinzugegeben und mit konz. NaOH auf pH 7,8 eingestellt. Unter kräftigem Schütteln wird die Lösung auf 80° C erhitzt, dann schnell gekühlt und zweimal durch Papierfilter gegeben. Der Vorgang wird nach Zugabe von weiteren 5 ccm $CaCl_2(2H_2O)$-Lösung wiederholt. Nach einem Zusatz von 0,1 g Cystin, 5 mg Nikotinsäure (beides mit wenigen Tropfen konz. HCl gelöst), 5 mg Beta-Alanin, 5 mg Para-Aminobenzoesäure, 5 mg Pimelinsäure (gelöst in Aethanol), 0,15 mg $CuSO_4(5H_2O)$, 0,1 mg $ZnSO_4(7H_2O)$, 0,1 mg $MnCl_2(4H_2O)$ wird die Lösung unter Kontrolle der pH (7,6) mit Aqua redest. auf 1000,0 aufgefüllt. Der mittlere Eisengehalt (Bestimmung nach *Heilmeyer* und *Plötner*) soll um 10 γ% liegen und wird für die Weiterzüchtung von Stämmen mit $FeSO_4(7H_2O)$ auf ca. 60 γ% eingestellt. Die so modifizierte Standard I-Bouillon — je 10 ccm in Reagensgläser abgefüllt und 15 Min. bei 1 at sterilisiert — kann bei Raumtemperatur bis 4 Wochen auf Vorrat gehalten werden. Sie garantiert bei 8tägiger Übertragung und einer Inkubationstemperatur von 31° C hinreichendes Wachstum frisch isolierter Stämme, zum Nachweis ausreichende Toxin A-Produktion (bei ca. 10 γ% Fe) und Erhaltung der Virulenz im Meerschweinchenversuch über lange Zeiträume.

Nährbouillon II: Als Stickstoffquelle dient ein bis zu den Aminosäuren abgebautes Caseinpräparat in einer Konzentration von 0,36% N (bestimmt nach Kjeldahl). Die für 1000,0 Nährlösung erforderliche Menge wird, gelöst in 400,0 Aqua redest., unter Zusatz von Phosphaten und $CaCl_2$ nach oben angegebenem Verfahren zur Entfernung des überschüssigen Eisens behandelt. Nach Zugabe der Adjuvantien und 500,0 Tyrodelösung wird die Flüssigkeit unter pH-Kontrolle (7,6) auf 1000,0 mit Aqua redest. ergänzt, nochmals filtriert und dann sterilisiert.

Diese aus Vorversuchen ermittelte Grundform eines ultrafiltrierbaren Mediums erwies sich als recht geeignet zur Untersuchung des Einflusses verschiedener Zusätze und Änderungen der Inkubationsbedingungen auf Wachstum und Toxinbildungsvermögen frisch vom Krankenbett isolierter Corynebacterien. Eine besondere Adaptation war weder für diese Erreger noch für den Stamm A8 (PW 8) oder andere Laboratoriumsstämme nötig. Das optimale Verhältnis Stickstoff : Kohlenhydrat wechselt von Stamm zu Stamm. Gleiches gilt für den zur Toxin A-Bildung erforderlichen Eisengehalt, vielleicht auch andere Metalle und Adjuvantien, worauf — da für unsere Fragestellung weniger wichtig — nur in zweiter Linie geachtet wurde. Für die Erhaltung der Virulenz

über längere Zeiträume ist dieses Medium ungeeignet, da schon nach 6—8 Passagen Verlust der Tierpathogenität und irreversible Typeninvolution auftritt.

Inkubationsarten: Kulturen wurden als Reagensglaskultur, Oberflächenkultur, aerob und mehr oder weniger anaerob (durch Paraffinüberschichtung bzw. Haltung im Vakuum bis 5 Torr) bei 35° C über wechselnde Zeiträume gehalten. Darüber hinaus wurde die Züchtung in Schüttelflaschen bei unterschiedlichem Luftdruck (als Modellversuch zum Einfluß des Witterungsumschlages auf den Mikroorganismus) durchgeführt.

Als Routineuntersuchungen wurden Änderung der Bouillonfarbe, Verschiebung des pH-Wertes, Toxinauswertung an der Kaninchenhaut *(Römer-Jensen)* bzw. durch die *Ramon*sche Flockungsreaktion und Bestimmung des Bakteriengehaltes vorgenommen.

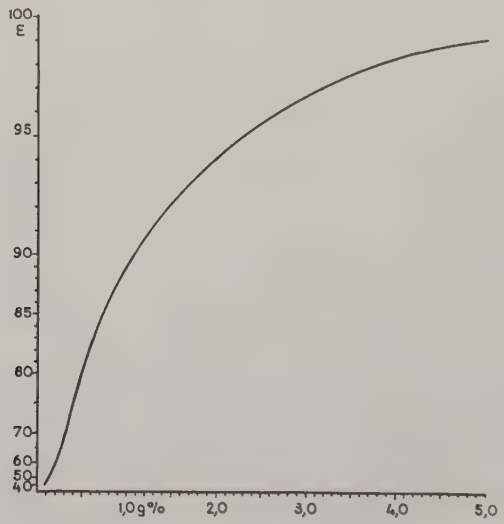

Abb. 1. Eichkurve zur annähernden Bestimmung des Bazillenanteils in 100 ccm Bouillon. Die Ordinante gibt die gefundene Extinktion, die Abszisse den zugehörigen Bazillengehalt in Gramm/Vol.% an. Zur Standardisierung fand der Stamm «Frankfurt» Verwendung.

Die Ermittlung des Bewuchses erfolgte nephelometrisch (Colorimeter nach Lange; mit Blau-Grün-Filter und 10 ccm Rundküvetten): 10 ccm der bis zur gleichmäßigen Suspendierung der Organismen behandelten Bouillon werden 15 Min. bei 3500 U/min zentrifugiert, der Niederschlag mit Phenol-Kochsalzlösung gewaschen, dann in Phenol-Kochsalzlösung bis zu einem Volumen von 10 ccm aufgeschwemmt und die Trübung (E) gegen Phenol-Kochsalzlösung vermessen. Die Beziehung zwischen E und Bazillengehalt (naß gewogen, Gramm auf Vol.%) kann einer Eichkurve entnommen werden.

Alle von uns untersuchten Zusatzpräparate können im Handel als Reinsubstanzen bezogen werden oder wurden uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Eine Ausnahme bildeten Hyaluronsäure und deren Polysaccharid. Entsprechende Präparationen mußten also hergestellt werden:

Als Ausgangsmaterial eines haltbaren Mucinpräparates für Testzwecke dienten Nabelstränge, welche bis zur Verarbeitung in Aceton aufbewahrt wurden. In einem Arbeitsgang wurden 15—20 Nabelschnüre verwendet. Das Material wird nach sorgfältiger Zerkleinerung für 24 Stdn. mit 1000 ccm 3%iger Essigsäure extrahiert. Dann wird der Brei ausgepreßt, mit Aethanol bis zur Säurefreiheit gewaschen und 500 ccm durch NaOH alkalisiertem Aqua dest. 24 Stdn. extrahiert. Die Extraktion wird noch zweimal wiederholt, und die vereinigten Extrakte werden unter ständigem Rühren mit einem Glasstab in das 5fache Volumen Aethanol gegeben. Hierbei sammelt sich eine fadenförmige Masse um den Glasstab, die so leicht gewonnen werden kann. Sie wird im Vakuum getrocknet und im Mörser pulverisiert. Für Testzwecke verwendeten wir eine 0,25%ige Lösung bei pH 6,5.

Ein Hyaluronsäurepolysaccharid-Präparat aus Nabelschnüren wurde auf folgende Weise hergestellt: 20 bis zur Aufarbeitung in Aceton aufbewahrte Nabelstränge werden sorgfältig zerkleinert, wie schon beschrieben in Essigsäure extrahiert und mit Aethanol gewaschen. Der resultierende nicht mehr saure Brei wird mit dem 2fachen Volumen Aqua dest. versetzt und mit NaOH unter fortlaufender Kontrolle auf pH 9,0 gehalten. Die Masse wird bei einer Temperatur von 45° C intensiv durchgeschüttelt bis die letzten Nabelschnurteilchen gelöst sind. Durch Zusatz von Trichloressigsäure bis 10% und bei pH 4,5 wird noch vorhandenes Protein durch Zentrifugieren abgeschieden. Die überstehende Flüssigkeit wird mit dem 5fachen Volumen gesäuerten Aethanols versetzt, der entstehende Niederschlag 3mal in durch Essigsäure gesäuertem Aether gewaschen, im Vakuum getrocknet und pulverisiert. Das Produkt stellt ein leicht gelbliches, in Wasser gut lösliches Pulver dar; die Lösungen sind deutlich viskös. Bei Zusatz von Jod entsteht eine braun-rötliche Färbung, die beim Erwärmen verschwindet und in der Kälte zurückkehrt.

Zum Nachweis der Hyaluronidase-Aktivität von Kulturfiltraten in vivo diente der Spreading-Effekt in der Kaninchenhaut. Die Spezifität von Reaktionen beschleunigter Ausbreitung eines Farbstoffes (10%iger Zusatz einer gesättigten wäßrigen Kongorotlösung) wurde durch In-vitro-Versuche (Viskositätssenkung von Hyaluronsäurelösungen, Bestimmung reduzierender Substanzen nach Hagedorn-Jensen und Verlangsamung der Erythrocytensedimentation in Hyaluronsäurelösungen nach Einwirkung von Kulturfiltraten) gesichert.

Ergebnisse und Diskussion.

Geringfügige Änderungen des Fe-Gehaltes im Nährmedium bedingen erhebliche Unterschiede in der Giftbildungsfähigkeit *(Pope, Pappenheimer* und *Johnson, Hettche* und *Becker)* ohne deutliche Wachstumsbeeinflussung. Hier sind andere und zum Teil mit den verschiedenen Erregertypen verknüpfte Besonderheiten zu beachten. Aus unseren Voruntersuchungen zur Frage der günstigsten Wachstumsbedingungen können Beispiele hierfür entnommen werden (Abb. 2). Zur Erzielung optimalen Wachstums müßte eigentlich Stickstoff- und Kohlenhydratgehalt des Mediums für

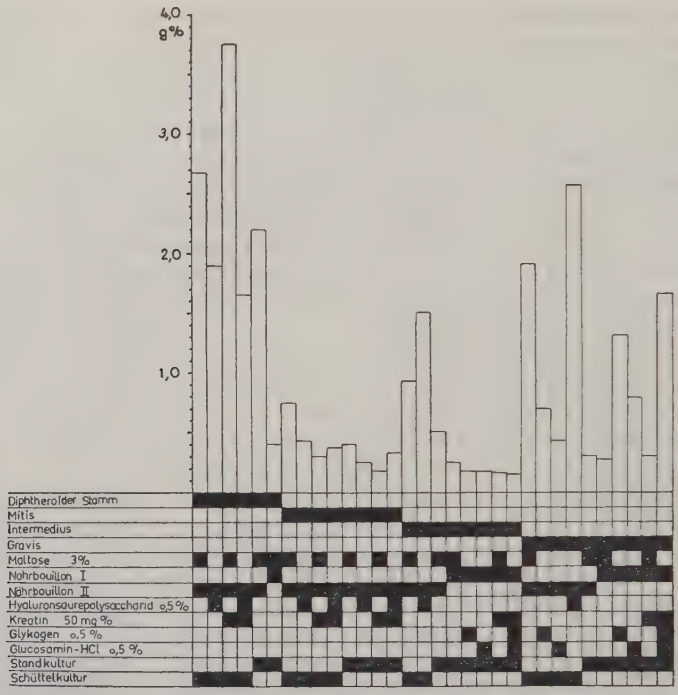

Abb. 2. Schwarze Kästchen zeigen die Art des Stammes, des Kulturverfahrens, Nährbodens und der besonderen Zusätze an. Aus den Säulen kann der Bazillengehalt in Gramm% nach 4tägiger Bebrütung bei 35° C entnommen werden.

jeden Stamm individuell ausbalanciert werden. In erhöhtem Maße gilt dies für den Grad der Belüftung und den Fe-Gehalt, wenn Höchstkonzentrationen an Toxin A erwünscht sind. Diesem Punkt haben wir weniger Beachtung geschenkt, weil jahrzehntelange Erfahrungen bereits vorlagen, als deren Abschluß die Untersuchungen von *Mueller* und *Miller* betrachtet werden können.

In unseren Nährsubstraten bildeten Gravisstämme — im Gegensatz zum PW8-Stamm — bei 60—750 γ% Fe noch erhebliche Toxin A-Mengen (siehe auch *J. H. Mueller*). Ein Erreger vom Gravistyp — in diesen Untersuchungen vor allem für Wachstumsstudien verwendet — konnte überhaupt nicht zur Giftbildung gebracht werden.

Wenn auch ausreichende Belüftung wegen ihrer Bedeutung für Toxin A-Produktion und Wachstum genauer studiert wurden (*Pope* und *Healy, Loiseau* und *Philippe, Wadsworth* und *Wheeler,*

Siebenmann, Bordet), mußten die vorliegenden Versuche — der Hypothese *O'Mearas* folgend — die Fragestellung erneut berücksichtigen. Weitgehend anaerobe Bedingungen führten zu geringerer Bazillenausbeute und weniger Gift, nicht aber zu einer qualitativen Änderung desselben. Durch Anlegung von Schüttelkulturen nach dem Verfahren von *Lingood* und *Fenton* konnte keine grundsätzliche, sondern nur eine der Wachstumsintensität parallelgehende Steigerung der Toxin A-Produktion erzielt werden. Lediglich zwei, ihrem fermentativen Vermögen, der Unfähigkeit zur Haemolysinbildung wie der Wachstumsform in Bouillon nach als Intermedius anzusprechende Stämme bildeten unter diesen Bedingungen doppelt so viel Toxin wie in Standkulturen. Durch den Prozeß der Schüttelkultur wurde das Bazillenwachstum in der Zeiteinheit erheblich gefördert; das heißt, die Fähigkeit zur Toxin A-Bildung vorausgesetzt, wirkt intensivere Belüftung bis zu einem gewissen Punkt wachstums- und toxinbildungsfördernd. Darüber hinausgehende Belüftung vermindert die Toxinausbeute bei weiterem Anstieg der Wachstumskurve, wahrscheinlich durch schnell einsetzende Toxinzerstörung.

In dem Bestreben, unter wechselnden Versuchsbedingungen physiologische Möglichkeiten zu imitieren, wurden dem Nährmedium eine Reihe von biologisch wirksamen Substanzen (Vitamine A bis K und Steroidhormone) in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Paraaminobenzoesäure kann durch Biotin oder Folsäure ersetzt werden. Jede der drei Substanzen fördert Wachstum der Erreger und Säuerung der Nährmedien. Beta-Alanin ist gegen Pantothensäure und ihre Salze, nicht aber gegen Panthenol austauschbar. Panthenolkonzentrationen über 50 mg% wirken deutlich wachstumhemmend, desgleichen möglicherweise gewisse Steroidhormone (oder deren Handelsformen?).

Unter Bedingungen, die eine Toxin A-Produktion größeren Ausmaßes verhindern (bei einem Eisengehalt von mehr als 750 γ% des sauren Nährmediums), trat bei fast allen Stämmen — unabhängig von ihrer Zugehörigkeit zu einer bestimmten Wuchsform — eine im Tierversuch nachweisbare, aber nicht mit Sicherheit reproduzierbare Eigenschaft hervor. Bei intracutaner Injektion von Kulturflüssigkeit entwickelte sich beim Versuchstier innerhalb weniger Minuten ein purpurfarbener Fleck, der sich rasch verbreiterte. Nach 30—60 Minuten hatte sich eine kleine Nekrose gebildet. Dem steril bebrüteten Medium ging diese Eigenschaft ab. Der minimale nekrotisierende Effekt der Kulturfiltrate konnte durch die übliche Antitoxinprophylaxe nicht verhütet werden. Damit war eine grundsätzliche Übereinstimmung mit den Befunden

O'Mearas insofern erzielt, als einige Stämme unter Bedingungen, die einer Toxin-A-Produktion entgegenarbeiten, ein nicht durch Antitoxin neutralisierbares, lokal sofort wirkendes toxisches Agens produzieren. Weder Spreading-Wirkung in vivo noch Hyaluronidaseaktivität in vitro waren nachweisbar. In sauren Präparaten aus der Nährbouillon I inkubiert mit Gravisstämmen konnten Effekte vermutet werden, aber die Unterschiede gegenüber Mitiskulturen waren nicht signifikant; ja, Hautreaktionen wurden durch letztere stärker ausgelöst. Der Zusatz von Hyaluronsäurepolysaccharid zum Nährmedium führte zu einem leichten Ansteigen der Ausbreitungsaktivität unter Verschwinden der Lokalreaktion bei Gravis-, zur Verstärkung der Lokalreaktion bei Mitisformen.

Verglichen mit den von *O'Meara* berichteten dramatischen Effekten waren die bisher vorliegenden Ergebnisse spärlich und ihre Deutung schwierig. *Feierabend* und *Schubert* wie *Debré, Ramon* und *Thiroloix* sahen im Tierversuch stärkere Lokalreaktionen von Stämmen toxischer Diphtherie. *Heissen* faßt ihre Befunde zusammen: 1. Bei den gewöhnlichen Stämmen waren die lokalen Erscheinungen im ganzen etwas heftiger. 2. Bei den «toxischen» Stämmen (das soll heißen, Erreger von toxischen Erkrankungsfällen) tritt der Tod der Versuchstiere im ganzen etwas früher ein. *Ivanić, Dimitrijevic* und *Jovanovic* fanden bei Croupstämmen ausgedehntere und bei anderen Erregern mehr beschränkte lokale Gewebsveränderungen. Diesen Autoren gelang auch die Herstellung eines praktisch antitoxinfreien, antibakteriellen Serums von hohem Curativwert. Aus früheren Untersuchungen mit Stierhodenhyaluronidase, Mucin, Depotstoffen und PW8-Toxin *(Sohier* und *Demarchi, Niggemeyer, Ströder* und *Niggemeyer, Niggemeyer* und *Dubrauszky)* ist bekannt, daß der lokale Effekt des Diphtheriegiftes durch Hyaluronidase ausgebreitet und in der Intensität gemildert, durch Mucin ausgebreitet und verstärkt, durch Depotstoffe nur verstärkt wird.

Zur Ausschaltung von durch verschieden starken Eiweißabbau bedingten Fehlerquellen wurden alle weiteren Untersuchungen über Besonderheiten der Giftbildung mit der eiweißfreien Nährbouillon II durchgeführt. Wenn bisher ältere, von unbekannten oder banalen Krankheitsbildern gewonnene Laboratoriumsstämme getestet worden waren, sollten nun in Verfolgung der Gedankengänge *O'Mearas* Erregerstämme deutlich divergierender klinischer

Verlaufsformen der Diphtherie Verwendung finden. Begünstigt durch das häufigere Auftreten diphtherischer Erkrankungen während des Winterhalbjahres 1953/54 konnten wir folgende Auswahl treffen:

1. Klinisch dem Diphtherie-Croup ähnliches Krankheitsbild bei verminderter Schleimhaut- und Allgemeinresistenz.

2. Typischer Diphtherie-Croup mit leichten Intoxikationserscheinungen.

3. Unkomplizierte, lokalisierte Tonsillardiphtherie, hervorgerufen durch den Erregerstamm von 4.

4. Progrediente, sekundär toxische Rachendiphtherie mit tödlichem Ausgang.

5. Hypertoxische Diphtherie, die in 36 Stunden tödlich endete.

FALL 1 (Nr. I, 841), F. D. Vorgeschichte und klinischer Verlauf:

3¾jähriger Junge. F.A.: ohne Besonderheiten. E.A.: Im Alter von 3 Jahren Pertussis, neigt zu Erkältungen, 3 Wochen vor der jetzigen Erkrankung Morbilli. Seit einigen Tagen besteht Husten. 11 Stunden vor der stationären Aufnahme aus dem Schlaf heraus plötzliches Erwachen unter Atemnot und Stridor. Zunehmende Dyspnoe und Verschlechterung des Allgemeinzustandes führen zur Klinikeinweisung.

Befund: Unruhiges, blaß-cyanotisches Kind in reduziertem AZ. Temp. 36,3° C ansteigend auf 38,0° C nach Besserung der Kreislauflage. Bellender Husten, heisere Stimme, vernehmlicher inspiratorischer Stridor, angedeutete Einziehung des Jugulum und Epigastrium. Puls mäßig und wechselnd gefüllt, Herzaktion regelmäßig, beschleunigt, Töne rein, RR. 80/50. Über der Lunge vereinzelt grobe bronchitische Geräusche, röntgenologisch normaler Befund. Abdominalorgane klinisch o. B.

Aus beiden Nasenöffnungen rinnt blutig-schleimiges Sekret. Die Schleimhaut des weichen Gaumens und des Rachens ist hochrot und ödematös. Die mittelgroßen zerklüfteten Tonsillen zeigen keine Beläge. An der hinteren Rachenwand befindet sich eine dicke Schleimstraße.

Vorläufige klinische Diagnose: Pseudo-Croup (Diphtherie?).

Verlauf: Nach Behandlung mit Diphtherie-Serum, Sedativis und Antibioticis sowie Dampfbett und Freiluft im Wechsel tritt eine schnelle Besserung des Zustandes ein. Das Kind ist am 4. Krankheitstag entfiebert, seine Entlassung in gebessertem Allgemeinzustand erfolgt am 9. Tag.

Aus dem Nasen- und Rachenabstrich wurden neben Staphylokokken, Mikrokokken, hämolysierenden und vergrünenden Streptokokken Pseudodiphtheriebazillen gezüchtet.

Untersuchungen mit diesem diphtheroiden Erreger erfolgten nach dem Gesichtspunkt, daß die vorangegangene Masernerkrankung eine wesentliche Abnahme der Schleimhaut- und Allgemeinresistenz herbeizuführen vermochte, wodurch auch ein an sich kaum pathogener Stamm hier örtliche Läsionen bewirken könnte.

Zu prüfen blieb, ob diese atypischen Corynebacterien einen ins Kulturmedium übertretenden gewebsschädigenden Faktor bildeten.

Wenn auch nicht beabsichtigt ist, in den seit Jahrzehnten währenden Streit um die Abgrenzung des C. diphtheriae innerhalb der Corynebacterien einzutreten, sei doch auf die Arbeiten von *Tarnowski* und *v. Buße* wie *Frobisher* und *Updyke* hingewiesen. Der Versuch der Einordnung kann erhebliche Schwierigkeiten verursachen. Für den vorliegenden Fall möchten wir uns *R. Müller* anschließen: «Meines Erachtens sind die Para-DiB nicht zu trennen von den unvirulenten DiB bei Ozäna, Ohreiterung u. a.»

Der Erreger zeigt auf Blut-Agar-Platte gutes Wachstum in flachen, trockenen, rauhen Kolonien mit zerflattertem Rand und fehlender Haemolyse. In den schlanken, leicht gebogenen Stäbchen finden sich nach 18 Stunden Polkörperchen nur vereinzelt, nach 48 Stunden in den meisten Organismen gedoppelt. Auf Cystin-Tellur-Blut-Agar bilden sich große, grau-schwarze, matte, radiär gestreifte Kolonien mit zentralem Knopf. In unseren Medien entsteht zuerst eine hauchförmige Trübung der ganzen Oberfläche, dann ein granuliertes Häutchen und schuppiger Bodensatz und zuletzt (nach 6 und mehr Tagen) eine dicke schleimige Kahmhaut. Traubenzuckerbouillon wird kaum gesäuert, Stärke nicht angegriffen, wohl in geringem Maße Saccharose. In flüssigen Medien tritt starke Alkalisierung auf.

Im Meerschweinchen-Versuch erwies sich der Stamm als kaum pathogen. Am Ort der Injektion trat vorübergehend eine mäßige Schwellung und Infiltration ein. Das Allgemeinbefinden der Tiere war für 2 bis 3 Tage gestört, geringfügige Nekrosen konnten beobachtet werden. Lähmungen und sonstige Spätkomplikationen blieben aus. Die frischen Filtrate von mehr als 4 Tage bebrüteten Kulturen erzeugten bei intradermaler Injektion am Meerschweinchen und Kaninchen eine sofort auftretende Rötung und kleine zentrale Nekrose. Diese Fähigkeit — identisch mit der «echter» Diphtheriebazillen — war eindeutig an das Vorhandensein einer Häutchenbildung in der Bouillonkultur oder gesicherte Belüftung durch Schüttelkultur gebunden und ging in alten Kulturen verloren. Aus der Erwägung heraus, daß möglicherweise der Einfluß von Luftsauerstoff für den Verlust der nekrotisierenden Fähigkeit verantwortlich zu machen sei, wurde — da anaerobe Bedingungen zwar noch zu Wachstum, nicht aber zur Bildung des Wirkstoffes führten — nach einem geeigneten physiologischen Stabilisator gesucht. Hier empfahl sich auf Grund der früher gemachten Erfahrungen bei echten Diphtheriebazillen Hyaluronsäurepolysac-

charid. Dieses war in seiner stabilisierenden Fähigkeit Glykogen und Stärke deutlich überlegen. Das polysaccharidhaltige, wirksame Filtrat erwies sich als relativ hitzefest. Durch Erwärmung auf 95° C für 5 Minuten wurde seine Wirksamkeit nicht zerstört. Intradermale Injektion von 0,2 ccm führte innerhalb von 30 Minuten zu einer scharf demarkierten, mehr als 5 mm im Durchmesser betragenden Nekrose, umgeben von einer ca. 3 cm messenden Quaddel. Eine Konzentrierung des Wirkstoffes aus dem rohen Kulturfiltrat war durch Fällung des Polysaccharids mit 5 Vol. Aethanol leicht durchführbar. So angereicherte Präparate vermochten auch in hoher Dosierung bei intravenöser Applikation nicht, den Tod der Versuchstiere (Kaninchen) herbeizuführen. Die nekrotisierende Fähigkeit wirkte sich ungestört bei mit Antitoxin (200 A.E./Körpergewicht) vorbehandelten Tieren aus. Dies war nach den negativen Ergebnissen der Antitoxinprophylaxe bei dem nekrotisierenden Stoff typischer Diphtheriebazillen kaum anders zu erwarten.

Das Ergebnis konnte nach noch zu berichtenden Untersuchungen nicht in vollem Umfang aufrechterhalten werden. Hier sei nur vorweggenommen, daß der nekrotisierende Faktor aller von uns untersuchten Stämme einschließlich des PW8 nach seiner Wirkung wie auch serologisch identisch ist. Entweder ist er ein Gruppenantigen, oder der Abtrennung von (manchen?) Pseudodiphtheriebazillen fehlte jede Berechtigung. Für fakultativ pathogene Para- und Pseudodiphtheriebazillen neigen wir zu der ersteren Auffassung.

Der hier untersuchte, von einem diphtheriecroupähnlichen Krankheitsbild gezüchtete diphtheroide Erreger bildete weder bei der Infektion des Versuchstieres noch in vitro Toxin A oder einen Spreading-Faktor.

FALL 2 (Nr. I, 874), G. G. Vorgeschichte und klinischer Verlauf:

10jähriger Junge. F.A.: ohne Besonderheiten. E.A.: Des öfteren Halsschmerzen und Bronchitis, vor 3 Jahren Masern, vor 2 Jahren Otitis media acuta. 4 Wochen vor der stationären Aufnahme bestand eine eitrige Angina (Diphtherie?), die unter Sulfonamidbehandlung schnell abklang. Seit 14 Tagen hustet das Kind zunehmend und wird heiser. Seit 2 Tagen hinzutretende Atemnot, Schlaflosigkeit und Schweißausbrüche führen zur Klinikeinweisung. Der Junge soll in den letzten 3 Wochen fieberfrei gewesen sein.

Aufnahmebefund: Schwer kranker, cyanotischer, unruhiger und ängstlich blickender Patient in ausreichendem EZ. Temp. um 37,0° C. Lauter inspiratorischer Stridor, starke Einziehung des Jugulum, Epigastrium und der Intercostalräume, positives Bayeuxsches Zeichen. Petechiale, wahrscheinlich mecha-

nisch bedingte Hautblutungen im Bereich der oberen Thoraxapertur und des Halses. Puls stark wechselnd, mäßig gefüllt, Frequenz zwischen 90 und 130. Starke respiratorische Arrhythmie, Herztöne, soweit zu beurteilen, rein, laut, vielleicht etwas paukend. RR. 110/70. Über der Lunge außer fortgeleiteten Geräuschen kein wesentlicher, vor allem kein pneumonischer Befund. Abdominalorgane klinisch o. B.

Nase teilweise mit schleimig-eitrigem Sekret gefüllt, soweit zu übersehen belagfrei. Weicher Gaumen, und Rachenschleimhaut hochrot und oedematös verschwollen. Tonsillen groß, zerklüftet, aber ohne diphtherische Membranen. Kieferwinkeldrüsen wenig vergrößert, nicht druckschmerzhaft. Bei der Racheninspektion wird blutig-eitriges Trachealsekret hochgewürgt.

Vorläufige klinische Diagnose: Verdacht auf sekundären Diphtherie-Croup.

Verlauf: Da massive antitoxische und antimikrobiotische Therapie im Verein mit den üblichen Maßnahmen zunehmende Verschlechterung nicht aufzuhalten vermag, wird nach 7 Stunden im Zustand fortgeschrittener Somnolenz die Tracheotomie vorgenommen. Der weitere Verlauf ist vorerst komplikationslos, die Kanüle kann am 5. Tag entfernt werden, Fieberfreiheit besteht seit dem 8. Tag. Am 24. Tag des Klinikaufenthaltes klagt das Kind plötzlich über Bauchschmerzen, erbricht, und die Pulsfrequenz sinkt von 100 unvermittelt auf 55 ab. Es besteht Extrasystolie. Die Herztöne sind leise und dumpf; die Leber kann, um mehr als 2 Querfinger unter dem Rippenbogen vorkommend, palpiert werden. Elektrokardiographisch (Extremitätenableitung) kein verwertbarer pathologischer Kurvenverlauf. Nach 3 Wochen strenger Bettruhe ist klinisch in der Ruhe wie nach Belastung ein pathologischer Herzbefund nicht mehr zu erheben; Ruhe-, Steh- und Belastungs-Ekg sind unauffällig. In der Nachbeobachtung bis zum 85. Krankheitstag wurden neurologische Komplikationen nicht gesehen.

Neben vergrünenden Streptokokken und Fadenbakterien aus dem Nasenabstrich, vergrünenden Streptokokken und Mikrokokken aus dem Rachenabstrich wurde C. diphtheriae aus Nasen-, Rachen- und Trachealabstrich gezüchtet.

Der Erreger konnte als ein in allen Eigenschaften typischer Mitis-Stamm identifiziert werden. Er erwies sich im Tierexperiment als wenig pathogen; von 6 mit 0,2 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur intradermal infizierten Meerschweinchen ging nur ein Tier nach Kachexie am 24. Tag ein. Die passiv immunisierten Kontrollen (200 A.E./kg Körpergewicht) zeigten eine minimale Reaktion an der Injektionsstelle und blieben völlig gesund. In der 8tägigen Kultur war nach dem Römer-Jensen-Verfahren ein Toxin A-Gehalt von ca. $^1/_{100}$ Dlm/ccm nachweisbar. Dieser bei einem Eisengehalt von 15 γ% des Mediums gefundene Giftwert war durch weitere Änderungen des Verhältnisses Stickstoff : Kohlehydrat nicht zu erhöhen. Auch die Schüttelkultur brachte keine Steigerung, sondern im Gegenteil ein merkliches Absinken des Toxin A-Gehaltes bei annähernd doppelt starkem Bewuchs. Hier konnte

der nekrotisierende Faktor nachgewiesen und bei Unterdrückung der Toxin A-Produktion durch Vermehrung des Fe-Gehaltes im Medium isoliert zur Wirkung gebracht werden. Das Versuchsergebnis war beliebig reproduzierbar. Die Bildung oder — wahrscheinlicher — Erhaltung des Wirkstoffes war in Gegenwart von Hyaluronsäurepolysaccharid wesentlich verstärkt bzw. verbessert.

FALL 3 (Nr. I, 916). T. H. Vorgeschichte und klinischer Verlauf:

9¾jähriges Mädchen. F.A.: Geschwisterchen vor 5 Tagen an progredienter Rachendiphtherie erkrankt (hier Fall 4). E.A.: Mit 3 Jahren Masern, mit 4 Jahren Scharlach. Das Kind erkrankte am Tag vor der Krankenhausaufnahme mit Halsschmerzen, Übelkeitsgefühl und Appetitlosigkeit. 24 Stunden später wurde Diphtherieserum verabreicht und stationäre Aufnahme veranlaßt.

Aufnahmebefund: Etwas dürftiger Ernährungs- und Entwicklungszustand, nur geringes subjektives Krankheitsgefühl. Temp. bis 38,0° C. Haut und Schleimhäute frei von Blutungen. Puls ausreichend gefüllt, regelmäßig und von normaler Frequenz. Herz klinisch und elektrokardiologisch unauffällig, RR. 110/70. Lunge und Abdominalorgane klinisch o. B.

Beide Nasengänge frei. Rachenschleimhaut etwas gerötet, auf der linken Tonsille gut linsengroßer, weißlicher Belag. Kein peritonsilläres oder periglanduläres Oedem. Beide Kieferwinkeldrüsen sind leicht vergrößert.

Vorläufige klinische Diagnose: Lokalisierte Tonsillardiphtherie.

Verlauf: Innerhalb dieses zweiten Krankheitstages erhält das Kind 400 A.E. Diphtherieserum/kg Körpergewicht. 24 Stunden später entwickelt sich ein fleckförmiger disseminierter Belag der rechten Tonsille, während links die Demarkierung einsetzt. Am 6. Tag sind beide Tonsillen gesäubert. Nach dem 11. Tag treten auffällige Pulsschwankungen (Frequenz zwischen 120 und 60) und eine Sinusarrhythmie in Erscheinung. Neurologisch bietet das Kind während des ganzen Krankheitsverlaufes keine Besonderheiten. Eine schwere rezidivierende Serumkrankheit wird ohne ernsthafte Komplikationen überstanden. Die Entlassung in gutem Allgemeinzustand bei noch leicht pathologischer Herz-Stromkurve erfolgt am 67. Tag.

Aus dem Rachenabstrich wurden Diphtheriebazillen vom Intermedius-Typ gezüchtet.

Epikritisch müßte der Fall nach der Seckelschen Typologie als lokalisierte Diphtherie vom Typ C für die linke und Typ A für die rechte Tonsille gewertet werden. Doch treten Zweifel auf, wenn die interferierende frühzeitige Serumgabe und das folgende, durch den gleichen Stamm hervorgerufene Krankheitsbild mit bedacht werden.

FALL 4 (Nr. I, 907), T. M. Vorgeschichte und klinischer Verlauf:

2½jähriges Mädchen. F.A.: ohne Besonderheiten. E.A.: Bisher keine Kinderkrankheiten. 2 Tage vor der Klinikeinweisung traten erste Krankheitszeichen auf (Fieber, Schweißausbrüche, Erbrechen, Atemnot). Der nach 24 Stunden hinzugezogene Hausarzt weist am darauffolgenden Morgen nach Verabreichung von 4000 A.E. Diphtherieserum wegen Rachendiphtherie ein.

Aufnahmebefund: Schwer krankes Kind. Temp. zwischen 38,0 und 39,0° C. Stridoröse Atmung, blaß cyanotische Hautfarbe, keine Blutungen. Regel-

mäßiger Puls mit hoher Amplitude, Frequenz um 110. Herztöne rein, laut, RR. 105/55. Über den Lungen fortgeleitetes pharyngeales und tracheales Rasseln, sonst o. B.

Abdomen: Bauchdecken weich, keine pathologische Resistenz. Die Leber ist weder vergrößert noch druckschmerzhaft, die Milz nicht sicher tastbar.

Beide Nasengänge bis auf wenig angetrocknetes Sekret frei. Lippen und Mundschleimhaut trocken. Diphtherischer Foetor. Dicke weißgraue Beläge gehen von beiden Tonsillen auf das Zäpfchen, die hinteren Gaumenbögen und die Pharynxschleimhaut über; ihre unteren Begrenzungen sind bei der Inspektion nicht zu ermitteln. Beide Kieferwinkeldrüsen sind, rechts mehr als links, vergrößert und von etwas teigiger Konsistenz. Deutliche lokale Oedeme fehlen. — Harnbefund völlig normal.

Vorläufige klinische Diagnose: Schwere progrediente Rachendiphtherie.

Verlauf: Sofort bei der Aufnahme, d. h. noch innerhalb der ersten 48 Stunden der Allgemeinerkrankung und weniger als 12 Stunden nach Auftreten diphtherischer Beläge, wird die Diphtherieserumdosis auf 750 A.E./kg Körpergewicht ergänzt. Außerdem erhält das Kind Sedativa und Kreislaufmittel. Am darauffolgenden Tage haben sich deutliche periglanduläre Oedeme entwickelt, der Allgemeinzustand ist toxisch. Trotz Kreislaufstützung und Peristongaben tritt weitere, nicht aufzuhaltende Verschlechterung ein. Elektrokardiologisch wird am 5. Krankheitstag ein atrioventrikulärer und Schenkelblock rechts nachgewiesen. In der Nacht vom 6. zum 7. Tag kommt das Kind nach steilem Anstieg der Temperatur und Absinken der Pulsfrequenz ad exitum.

Aus den Rachenabstrichen beider Geschwister (Kasuistik 3 und 4) wurde ein Menschen-, Kaninchen- und Rindererythrocyten nicht hämolysierendes, auf Cystin-Tellur mit kleinen flachen, am Rand etwas zerflatterten, grau-schwarzen Kolonien wachsendes Corynebacterium gezüchtet. Auf Rinderblut-Agar ist Vergrünung angedeutet. Ältere Kulturen auf Blut-Tellurit zeigen feine zentrale Knotenbildung. In Nährbouillon I unter Maltosezusatz erfolgt langsames Wachstum als körniger Bodensatz. Im Vergleich mit Mitis- und Gravisstämmen ergeben sich im Standardmedium II in Gegenwart von 0,5% Maltose nach 8tägiger Inkubation folgende pH-Unterschiede: Mitis 8,0 und 9,0; Gravis 8,5 und 9,0; der zu prüfende Stamm 7,6 und 8,0. Die Zugabe von Glykogen und Glucosamin—HCl führte zu einer gegenüber kohlenhydratfreier Bouillon deutlichen Säuerung (pH 7,2; 7,4; 8,0). Hyaluronsäurepolysaccharid bzw. Bausteine desselben scheinen in etwas höherem Maße als von Mitis angegriffen zu werden, wenn die verminderte Alkalisierung der Bouillon als Maßstab gewertet wird. Wir stuften den Erreger, der sich bei weiteren Passagen in seinen Eigenschaften änderte, als Intermedius ein. Tierpathogenität: Von 6 nach dem schon angegebenen Verfahren intradermal infizierten Tieren ging eines am

4., das zweite am 6., das dritte, nach Lähmungen seit dem 24. Tag, am 28. Tag ein. Die aktuelle Toxin A-Produktion bei 15 γ% Fe betrug 1 Dlm in 2,8 ccm Filtrat; ihr Höhepunkt war am 12. Inkubationstag in der Standkultur erreicht. Die Schüttelkultur brachte etwa die gleiche Ernte schon nach 7 Tagen. Bei mehr als 120 γ% Fe konnte Toxin A nicht mehr nachgewiesen werden. Die primär nekrotisierende Fähigkeit der Kulturfiltrate von hyaluronsäure-polysaccharid-haltigen Medien war hier im alkalischen Bereich stark ausgeprägt, bei saurem pH vermindert und verschwand nach Zusatz von Testes-Hyaluronidase völlig.

FALL 5 entstammt der gleichen, örtlich eng umschriebenen Endemie wie Fall 3 und 4 und trat 3½ Monate später auf:

Archiv-Nr. I, 220, H. K., 5jähriger, kräftiger Junge, kommt bewußtlos mit Schnappatmung und tonisch-klonischen Krämpfen moribund zur Aufnahme. Der Tod tritt innerhalb der ersten 15 Minuten des Klinikaufenthaltes ein. Beidseits des Halses finden sich mächtige, die Konturen von den Jochbeinen bis zu den Schlüsselbeingruben grotesk verzerrende, weiche Oedeme (Cäsarenhals). Die Wangen- und Gaumenschleimhaut ist grau, glasig-oedematös durchtränkt. Ein Teil des weichen Gaumens und die vorderen Gaumenbögen sind mit stinkenden Belägen überzogen. Der Pharynx ist wegen der in der Mitte durch eine Belagmasse konfluierten riesigen Tonsillen nicht einzusehen. Aus der Nase rinnt ein dünnflüssiges, bräunliches Sekret.

Aus der Vorgeschichte sind nur wenige Daten zu erhalten: Am Vortage soll das Kind noch völlig gesund gewesen sein. Am Morgen des Todestages wurde es wegen Erbrechens aus dem Kindergarten nach Hause geschickt, war hier bis zum Nachmittage gegen 15 Uhr munter und unauffällig. Ganz plötzlich trat Bewußtlosigkeit ein. Der sofort hinzugezogene Hausarzt fand das vollentwickelte Bild einer Diphtheria gravissima vor, injizierte Diphtherieserum und wies ein. Nach Angabe der Eltern muß angenommen werden, daß der imposante äußere Lokalbefund sich in weniger als 3 Stunden ausgebildet hat.

Es liegt hier offensichtlich der selbst in Zeiten des gehäuften Vorkommens toxischer Verlaufsformen der Erkrankung extrem seltene Fall einer Diphtheria gravissima fulminans vor.

Als Erreger wurde ein typischer Gravisstamm isoliert, der sich auch in vitro vor allen von uns untersuchten echten Diphtherie-Stämmen durch besondere Wachstumsintensität auszeichnete. Infektion mit 0,2 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur tötete Meerschweinchen bis zu einem Gewicht von 800 g frühestens nach 14, spätestens nach 23 Stunden (6 Tiere). Die mit je 1000 A.E. Fermo-Serum geschützten Tiere blieben gesund, bis auf eine Lokalreaktion. Es entwickelte sich eine 1,2 cm im Durchmesser betragende Schwellung und Rötung mit linsengroßer zentraler Frühnekrose. Der Versuch der direkten Giftbestimmung im Römer-Jensen-Ver-

fahren ergab keine sicheren Resultate, da eine mit den Kulturfiltraten des A8-Stammes vergleichbare Giftdosis in der Verdünnungsreihe nicht gefunden werden konnte. Sofort nach der Injektion auftretende flächenhafte Rötung und schnelle Ausbreitung der Reaktion, zentrale Nekrosebildung innerhalb von 60 Minuten ermöglichten keinen Vergleich mit dem Verhalten des A8-Toxins aus gleichem Milieu. Der Durchmesser auftretender Reaktionen des A8-Giftes aus hyaluronsäurehaltiger Bouillon betrug nach 60 Minuten 1,8 × 1,9 cm, der dieses Gravis-Giftes 3,4 × 4,0 cm. Es bestand eine deutliche Tendenz der Reaktion, sich der Schwere folgend auszubreiten. Im Flockungstest waren die Gifte beider — gebildet bei einem Eisengehalt von 15 γ% — annähernd gleichwertig (A8 : L_f 7,4; Gravis: 6,8). Bei 120 γ% Fe betrug das Verhältnis der Giftbildung beider Stämme schätzungsweise 1 : 1000. indem das Kulturfiltrat von A8 noch 2 Drm in 0,2 ccm nachweislich enthielt, während 0,2 ccm Gravis-Toxin Meerschweinchen zwischen dem 2. und 4. Tag tötete (ein genaueres Meßverfahren für Gravis-Toxin ist noch nicht entwickelt, die Bestimmung der indirekten Dlm ist wegen des großen Aufwandes an Tieren indiskutabel). Je nach der eingestellten Wasserstoff-Ionen-Konzentration dieser Gravis-Kulturfiltrate (6,5—8,0) trat der Spreading-Effekt oder die primär nekrotisierende Wirkung stärker hervor.

Dieser Erreger einer hypertoxischen Diphtherie zeichnete sich also durch die Fähigkeit zur Toxin A-Bildung in einem auch in vitro viel weniger begrenzten Milieu aus, als dies bei allen vorher untersuchten Stämmen einschließlich A8 gefunden wurde. Besonders stürmisches Wachstum in der Kultur, hohe fermentative Leistungen und Bildung gewebsschädigend wirkender Faktoren stimmen mit einem bisher nicht beobachteten Grad von Tierpathogenität überein. Der gefundene Meerschweinchen-Letalfaktor ist identisch mit dem des PW8-Toxins und zeigt in vitro — nämlich im Flockungstest nach *Ramon* — keine Besonderheit. Prophylaktische Antitoxinverabreichung schützt Versuchstiere (auch die gegen Gravis-Erreger empfindlicheren Kaninchen) sicher vor dem tödlichen Ausgang der Infektion, nicht aber völlig vor der lokalen Schädigung.

Faßt man die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung über die in Kulturfiltraten des C. diphtheriae zu findenden pathogenen Stoffe zusammen, so können mindestens 3 Gifte unterschieden werden.

Das Toxin A: Dieser von *O'Meara* lediglich als Meerschweinchen-Letalfaktor bezeichnete Wirkstoff — nach allgemeiner Übereinkunft ein Ektotoxin — muß auch heute noch als der im Mittelpunkt des Diphtherie-Geschehens beim Menschen stehende Letalfaktor angesehen werden, ohne dessen Gegenwart das tödlich verlaufende Erscheinungsbild der Toxaemie schwer vorstellbar ist. Aus den hier vorliegenden Untersuchungen kann entnommen werden, daß qualitative Unterschiede nicht dieses Toxin A selbst betreffen können. Die Wirkung des Giftes — gebildet von Erregerstämmen divergierender Krankheitsbilder — war, wie auch von vielen Voruntersuchungen her bekannt, stets quantitativ durch das antitoxische Prinzip neutralisierbar. Insbesondere bei dem Versuch der Anpassung an ein physiologischeres Milieu wurden in vitro erhebliche Differenzen im Giftbildungsvermögen der einzelnen Stämme gefunden. Hierin befinden wir uns in Übereinstimmung mit den von *Zinnemann* nicht bestätigten Befunden *Muellers*. Die Fähigkeit, in einem natürlich vorliegenden Milieu mit relativ hohem Eisengehalt Toxin A zu bilden, ist eine der Voraussetzungen für die Entstehung der diphtherischen Intoxikation des Menschen. Aus vorgekommenen Unglücksfällen kann entnommen werden, daß nur geringe, in keiner Beziehung zu der hohen Toxin A-Produktion in eisenarmem Medium stehende Giftdosen genügen, um eine tödliche Intoxikation des Kindes hervorzurufen. Die bei unserem Stamm 4 gefundenen Verhältnisse machen es verständlich, warum hier die zum Haften gekommene Infektion den Tod mit Sicherheit nach sich ziehen mußte. Jede antitoxische Therapie wäre zu spät gekommen. Selbst eine vorher bestehende aktive oder passive Immunität mäßigen Ausmaßes wäre wohl durchbrochen worden. So ergibt sich, daß Faktoren, die das Haften der Infektion und ihre Propagierung ermöglichen können, unter Umständen für das Schicksal des infizierten Organismus von größerer Bedeutung sind als das ja erst nach Erfüllung dieser Prämisse wirksam werdende Toxin A des Erregers. Die Wirkungen dieser Faktoren — wahrscheinlich von *O'Meara* en bloc als Toxin B beschrieben — konnten in unseren Untersuchungen getrennt dargestellt werden.

Der nekrotisierende Faktor: Diphtheroide und Diphtheriebazillen verschiedener Wuchsformen können einen im Infektionsversuch wahrscheinlich schon von *Mair* wie *Feierabend* und *Schubert* beobachteten, aber unseres Wissens im Kulturfiltrat erst-

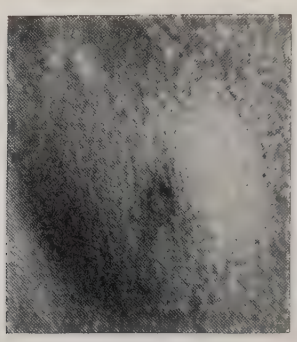

Abb. 3. Primär nekrotisierende Wirkung von einem Kulturfiltrat des C. diphtheriae (A8, Mitis, Ableger des PW8-Stammes) in der Kaninchenhaut trotz prophylaktischer Verabreichung von 8000 A.E. pro kg. Reaktion 1 Stunde post injectionem.

Abb. 4.

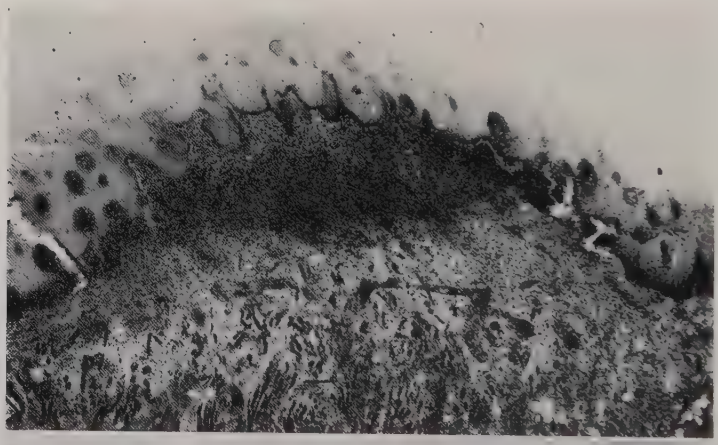

Abb. 5.

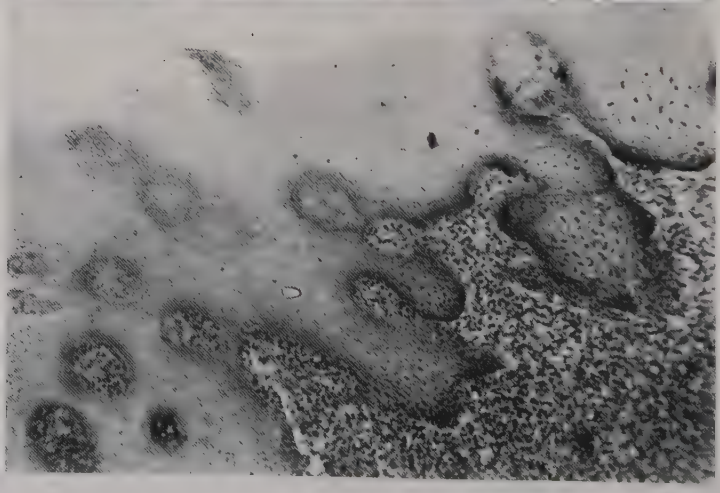

Abb. 4 –6. Histologische Befunde einer durch den nekrotisierenden Faktor des C. diphtheriae verursachten Veränderung der Mundschleimhaut des Meerschweinchens (siehe Text).

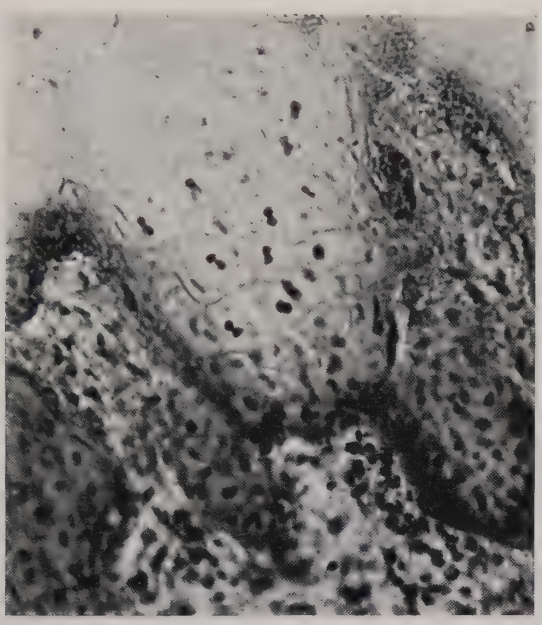

Abb. 6.

mals hier beschriebenen, nekrotisierenden Faktor von schnell einsetzender Wirksamkeit bilden. Ob dieser Stoff in hohen Dosierungen allgemein toxische oder tödliche Erscheinungen bei Versuchstieren verursacht, konnte bisher nicht festgestellt werden. Das wirksame Prinzip wird von den Erregern in Gegenwart von Luftsauerstoff im Nährmedium gebildet und ist in gereinigter Form außerordentlich instabil. Sein Molekulargewicht kann nach vorsichtiger Schätzung auf Grund von Ultrafiltrationsversuchen mit weniger als 20 000 angenommen werden. Eine Abgrenzung gegen Toxin A und Bazilleneiweiße ist also leicht durchzuführen. Bestimmte Polysaccharide, vor allem Hyaluronsäurepräparationen und bei Gravisstämmen Speichelmucin und Lecithin, in etwa auch Glykogen und Agar-Agar, üben eine stabilisierende Wirkung aus, die sich besonders gegen Temperatur- und Sauerstoffeinwirkungen richtet.

Unter 10 geprüften Diphtherieseren verlieh das wirksamste in einer prophylaktischen, intravenösen Dosis von 1000 A.E. pro kg-Tiergewicht einen deutlichen Schutz (Fermo-Serum der Behringwerke, Nr. 6373, Ausgabe-Datum 5. 1. 50), während ein anderes 2000faches Serum selbst in 8mal höherer Dosierung wirkungslos blieb. Scharlach-, Dysenterie- und Meningokokken-Antisera, in ent-

sprechenden Volumina als Kontrolle gegeben, hatten keinen prophylaktischen Effekt. Vorhandene Schutzwirkung von Diphtherieheilserum erstreckte sich auch auf den nekrotisierenden Faktor des diphtheroiden Stammes. Die Wirksamkeit des 1000fachen Fermoserums 6373 gegenüber dem nekrotisierenden Prinzip von Mitis- und Gravisstämmen und das Verhalten der Kontrollreaktionen kann aus Abb. 7 entnommen werden.

Während nach *Szirmai* eine die Haut des Versuchstieres deutlich nekrotisierende oder höhere Toxin A-Dosis an der Mundschleimhaut des Meerschweinchens — intramucös injiziert — lokal höchstens ein ganz mäßiges Oedem erzeugt, verursacht der neugefundene nekrotisierende Faktor bei gleichem Vorgehen eine weiß-gelbliche, unscharf begrenzte, nach 24 Stunden von einer haftenden Decke überzogene Veränderung, die sich bei histologischer Untersuchung als Nekrose, also hier einem Äquivalent der Wirksamkeit des Stoffes in der Epidermis, darstellt.

Histologischer Befund der Schleimhautnekrose (Prof. Dr. med. *W. Wepler,* Pathol. Institut der Universität Würzburg):

Die histologische Untersuchung des bereits formalinfixierten Gewebsstückes ergibt: An umschriebener Stelle Nekrose des Deckepithels in ganzer Dicke. Während die oberen Schichten überhaupt keine Kernfärbbarkeit mehr aufweisen (Abb. 5), sieht man nach der Tiefe zu und besonders in der Basalschicht zunächst schattenhafte, schließlich pyknotische Kerne. Sie sind oval und auffallend häufig hantelförmig. Die Epithelzellen sind stark geschwollen, ihr Protoplasma hell, die Zellgrenzen auffallend deutlich (Abb. 6). Das subepitheliale Stroma weist am Rande der Nekrose eine ausgedehnte Blutung auf. Unter der Nekrose selbst findet sich starke Hyperämie, auch von Blutungen durchsetzt und dichte Infiltration von polymorphkernigen Leukocyten. Sie verdecken förmlich die Grenze des Epithels und sind im Papillarkörper besonders massiv. Weiter nach der Tiefe zu eine Zone starker oedematöser Lockerung, die sich bis in die benachbarte Skelettmuskulatur erstreckt. Auch hier ist überall noch starke Hyperämie und diffuse Einstreuung polymorphkerniger Leukocyten zu sehen. Es handelt sich also um eine kräftige, vorwiegend subepithelial entwickelte, mit Blutung und dichter leukocytärer Infiltration einhergehende akute Entzündung mit lokaler Epithelnekrose.

Nach diesen Ergebnissen wird man den nekrotisierenden Faktor zumindest als eine der möglichen Ursachen der Entstehung örtlicher Schleimhautläsionen bei Diphtherie zu berücksichtigen haben.

Interessante Wechselbeziehungen bestehen zwischen nekrotisierendem und Spreading-Effekt. Die erste Wirkung tritt unabhängig vom pH-Wert der Filtrate (5,5—9,0) in Erscheinung. Sie kann

durch Zusatz von Testes-Hyaluronidase in saurem Milieu durch schnellere Ausbreitung in der Fläche bis zur makroskopisch völligen Paralysierung abgeschwächt werden. Gravis-Toxine können beide Eigenschaften in einer Konzentration besitzen, die so ausgeglichen ist, daß bei Injektion nur ein teigiges Oedem entsteht. Verschiebung der pH in den alkalischen Bereich macht dann die nekrotisierende, bzw. prophylaktische Gabe eines erprobten Antitoxinpräparates die Spreading-Wirkung sichtbar. Daß diese Korrelationen im natürlichen Infektionsgeschehen von großer Bedeutung sein können, ist offensichtlich, wenn Toxin A und spezifische wie unspezifische Abwehrreaktionen berücksichtigt werden.

Der Spreading-Faktor: Dieser vor allem durch Gravisstämme gebildete Wirkstoff — nach unseren Untersuchungen in Übereinstimmung mit *McClean* eine bakterielle Hyaluronidase — propagiert Erreger- und Giftausbreitung in tiefere Gewebsschichten, wobei der Schwerpunkt nach früheren Untersuchungen (*Ströder* und *Niggemeyer, Krech, Galeotti-Flori*) offensichtlich in der Ausbreitung der Infektion und Erschließung zusätzlicher Nahrungsquellen für den Erreger, nicht aber in einer spezifischen, das gesamte Bild der klinischen Erkrankung bestimmenden Hyaluronidase-Vergiftung liegt. Die Fähigkeit eines Corynebacteriums, Hyaluronidase zu bilden, kann, aber muß nicht Gradmesser der Pathogenität sein. Ein Laboratoriumsstamm vom Gravis-Typ (Sammlung des Hyg. Instituts der Univ.) war sehr schnell an hyaluronsäurehaltige Medien zu adaptieren, bildete Hyaluronidase, aber nicht Toxin A und wurde nicht meerschweinchenpathogen. Die besondere Fähigkeit einzelner Stämme des C. diphtheriae, Hyaluronidase zu bilden, kann in vitro durch Zucht auf hyaluronsäurehaltigen Medien erhalten werden. Zur Auffrischung dieser wie der nekrotisierenden Fähigkeit eignen sich Passagen über das Corpus vitreum der Ratte bei stark Toxin A bildenden und des Meerschweinchens bei den übrigen Stämmen. Hyaluronidaseaktive Kulturfiltrate sind nach von uns bisher durchgeführten Untersuchungen nicht befähigt, Heparin oder die Blutgruppensubstanz A von Erythrozyten anzugreifen. Erfahrungen von *Landsteiner* und *Chase* wie *Schiff* mit Clostridien machen es jedoch wahrscheinlich, daß eine Adaption von hyaluronidasebildenden Gravisstämmen an entsprechende Polysaccharidanteile jener Wirksubstanzen durchführbar ist oder die Fähigkeit bei einigen Stämmen spontan

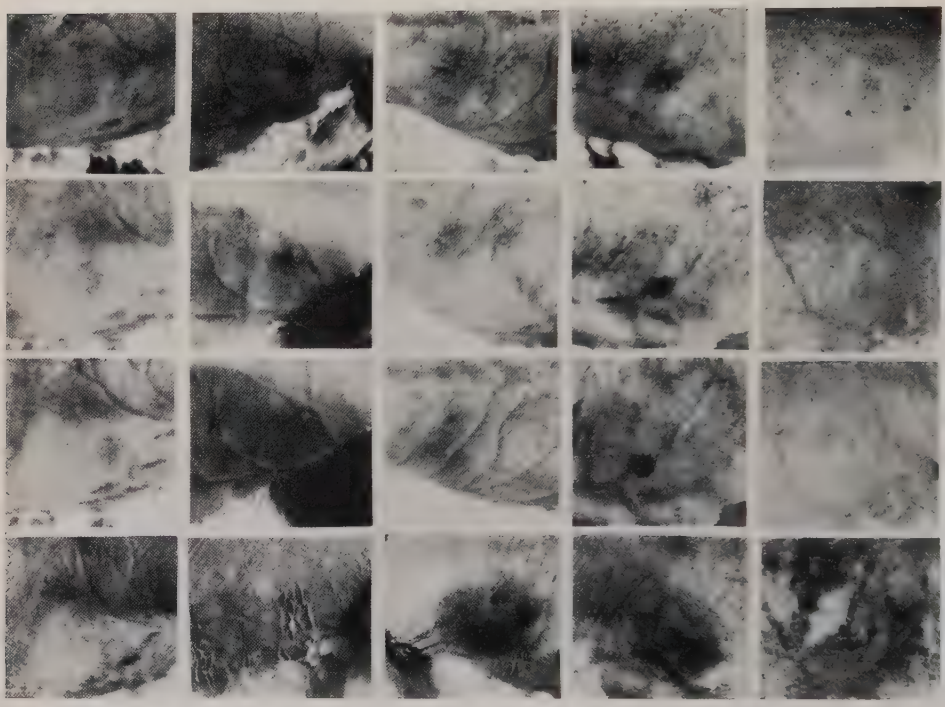

Abb. 7. Reaktion auf intradermale Injektion von 0.2 ccm Leerbouillon, Mitis- und Gravis-Toxin bei Kaninchen eines Wurfes. Vertikale Reihen (zeitliche Bildfolge 2, 18, 36 und 48 Std. post injectionem): 1) Bouillonkontrolle; 2) Mitis-Toxin unter gerade effektivem antitoxischem Schutz; 3) Gravis-Toxin bei pH 6,5; 4) Gravis-Toxin bei pH 8,0; 5) Gravis-Toxin bei pH 6,5 unter Antitoxinschutz (hier hebt die nicht neutralisierbare Spreading-Wirkung selbst die sonst durch Bouillonbestandteile verursachte Spurreaktion — siehe Reihe 1 — auf). Man beachte die Dissoziation zwischen Früh- und Spätgiften in Reihe 3 und 4. (Maßstab 1 : 2.)

vorkommt. Solange der Nachweis hierfür aussteht, kann eine klinische Bedeutung nicht diskutiert werden, so verlockend dies im Hinblick auf Befunde von *Seemüller* wie *Hockerts* und *Ströder* und die Blutgruppentheorie von *Hirszfeld* erscheinen mag.

Hyaluronidaseaktive Gifte senken die Viskosität von Hyaluronsäurelösungen und setzen — gemessen nach Hagedorn-Jensen — reduzierende Substanzen aus diesen in Freiheit. In der Kultur stellt sich bald ein Äquilibrium zwischen Ferment und Substrat her. Außerdem diente zwar in unseren Versuchen Glucosamin in Übereinstimmung mit *Noble* und *Knacke* dem C. diphtheriae als

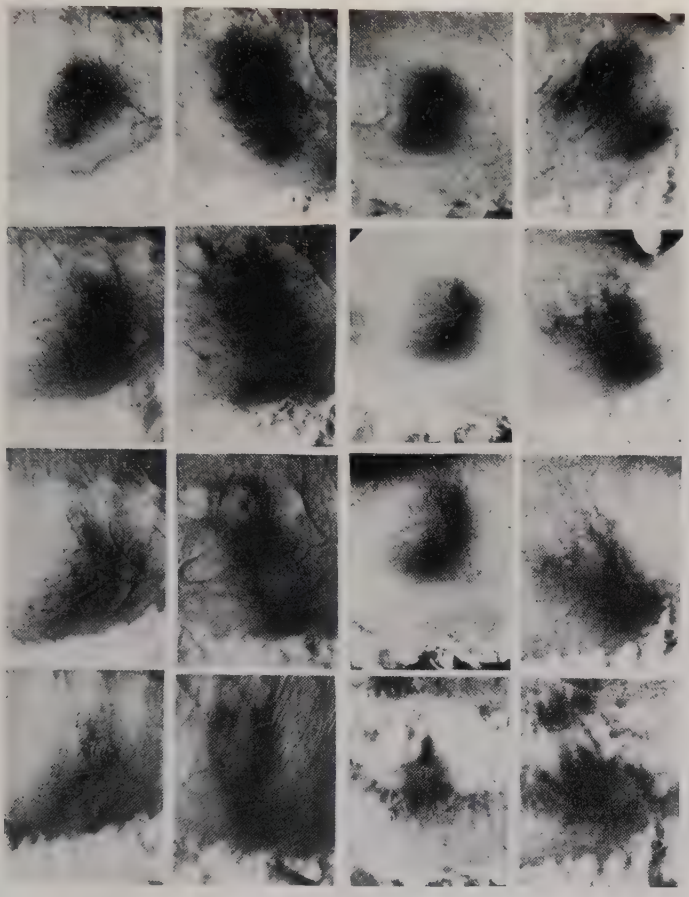

Abb. 8. Spreading-Effekt bei intradermaler Injektion von 0,2 ccm Leerbouillon und Gravis-Toxin (markiert durch 10% einer gesättigten wäßrigen Kongorotlösung) bei Kaninchen eines Wurfes und an symmetrischen Hautpartien. Vertikale Reihen (zeitliche Bildfolge 2, 18, 36 und 48 Std. post injectionem): 1) Leerbouillon; 2) Gravis-Toxin; 3) und 4) Leerbouillon und Gravis-Toxin bei antitoxinvorbehandeltem Tier (1000 A.E./kg). Keine echte Hemmung der Farbstoffausbreitung durch Antitoxin. Die Kratzeffekte in den Reaktionen der Reihe 2 und 4 — schon *O'Meara* berichtet über eindrucksvolle Schmerz- und Abwehräußerungen der Tiere nach Toxin B-Injektion — beruhen auf reiner Hyaluronidasewirkung (s. *Ströder* und *Niggemeyer*). Die primär nekrotisierende Wirkung wird auch hier durch Antitoxin abgeschwächt und die Ausbreitung in der ersten Phase gefördert. Die Differenz in den beiden Kontrollreihen ist durch unspezifische Streß-Wirkung bedingt. Die 18 Stdn. vorhergehende intravenöse Injektion von beliebigem artfremdem Eiweiß führt gesetzmäßig eine gewisse Hemmung der Farbstoffausbreitung herbei.

Energiequelle, aber Überprüfung der einzelnen Spaltprodukte zeigte, daß entsprechende Mengen von Glucuronsäure eine fast komplette Wachstumshemmung herbeiführten. Die Toxin A-Produktion — bezogen auf die resultierende Bazillenmenge — war trotz sauren Milieus unverhältnismäßig hoch. Dies zeigten Kontrollen mit Glykogen, welches zwar auch geeignet war, eine initial saure Bouillon lange sauer zu halten, aber das Bazillenwachstum förderte und die Toxin A-Produktion unterdrückte. Eine Parallelität zwischen Intensität des Wachstums und der Toxinbildung kann zwar, muß aber nicht bestehen. Dieser Punkt verdient im Hinblick auf Bakteriostase durch Antibiotica, die nur beim diphtherischen Croup Wesentliches leisten, genauer überprüft zu werden.

Das Hämolysin: Das wirksame Prinzip ist relativ thermostabil und nach *H. Schmidt* nur im Kulturfiltrat hochwertiger Gifte nachzuweisen. Es wurde von *Hammerschmidt* zum Versuch der Abtrennung verschiedener Typen herangezogen und wird nicht durch Antitoxin gebunden *(Goldie);* seine Bedeutung im Hinblick auf die Pathogenese ist gering oder wird so eingeschätzt. Dies wird schon durch das Auftreten schwerer Krankheitsbilder bei Infektion mit der nicht hämolysierenden Intermedius-Variante verständlich gemacht. Doch können weitere Untersuchungen nach den Befunden von *H. Schmidt* über das Auftreten von Hämaturie unter der Wirkung des Toxin B *O'Mearas* neue Gesichtspunkte aufzeigen. Nach *H. Schmidt* fanden *Görtzen* wie *Weinberg* und *Combiesco* bei histologischen Untersuchungen der Veränderungen, die bei Meerschweinchen unter dem Einfluß des Perfringens-Toxins zustande kamen und die mit Hämoglobinämie und Hämaturie verbunden waren, hämorrhagische Veränderungen wie auch Nekrosen, die jedoch beide weitgehenden individuellen Schwankungen bezüglich Umfang und Vorkommen in den einzelnen Organen unterworfen waren. Hier sei an die von *O'Meara* beobachtete Fähigkeit des Perfringens-Toxins, Toxin B-Wirkung zu imitieren, erinnert.

Extraktionen mit 0,9%iger Kochsalzlösung von Plattenkultur besaßen bei Stamm 4 starkes Hämolysierungsvermögen. 20 ccm eines solchen auf pH 5,5 angesäuerten Extraktes führten, Meerschweinchen in dosi refracta intraperitoneal verabreicht, den Tod der Tiere nach 8—12 Stunden herbei. Der schmutzig braunrote Harnblaseninhalt war nach Sedimentierung der Erythrozyten noch deutlich blutig gefärbt. Ante finem gewonnene Blutproben setzten

stets ein schokoladefarben hämolytisches Serum ab. Unsere früheren Untersuchungen zusammen mit *Dubrauszky* konnten wahrscheinlich machen, daß länger anhaltender Kontakt von PW8-Toxin mit lebendem Gewebe zu stärkerem Blutzerfall führt. Bei den Versuchstieren wurden in Milz und Lunge starke Hämosiderinablagerungen gefunden. Eingehende Studien über die Wirkung von letztgenanntem Toxin auf Erythrocytenmembranen wurden von *Ströder* durchgeführt. Solange keine hinreichende Technik zur Hämolysin-Reindarstellung besteht, muß die Frage nach der pathogenetischen Bedeutung des oder der hier wirksamen Stoffe offen bleiben. Eigene Befunde über die Bildung (oder Wirkmöglichkeit) zeigen vorerst nicht leicht zu klärende Diskrepanzen in Abhängigkeit von der Art des Kohlenhydratzusatzes im Nährmedium, hinter welcher die Empfindlichkeit der Erythrocyten je nach Herkunft dem Wirkstoff gegenüber zurücktritt. Der hämolysierende Effekt von Kulturfiltraten kann durch Lecithin paralysiert werden und tritt nach starker Verdünnung mit physiologischer NaCl wieder in Erscheinung (Analogie zu Gasbrandtoxin?). In glykogen- und hyaluronsäurehaltigem Milieu bleibt Hämolyse aus. Die Spontansedimentation wird andererseits nur im noch hyaluronsäurehaltigen Kulturfiltrat beschleunigt, was nach den Befunden von *K. Meyer* u. Mitarb. als Gradmesser für stattgehabte Depolymerisation der Hyaluronsäure vorteilhaft ausgenutzt werden kann. Nach unserer Erfahrung ist hierbei sorgfältige Berücksichtigung der Wasserstoff-Ionen-Konzentration oder Verwendung gut gepufferter Lösungen erforderlich. Diese Feststellungen finden im Hinblick auf Hämolysin eine hinreichende Erklärung in der Wirksamkeit noch vorhandener kolloidaler Substanzen der beiden Polysaccharide, zumindest sind ähnliche Beobachtungen bei Streptolysin gemacht worden. Eine Beziehung zwischen Toxin A-Gehalt und Hämolysierungsvermögen der Kulturfiltrate, wie von anderer Seite hervorgehoben, konnten wir in Aminosäurebrühe (II) nicht finden.

Die spärliche Bearbeitung des Diphtherie-Hämolysins im Vergleich zu den umfangreichen Untersuchungen über andere bakterielle hämolysierende Toxine ist für den Kliniker ein Zeichen der einseitigen Vorzugsstellung des Toxin A in der Diphtherieforschung. Gleiches gilt *H. Schmidt* zufolge für die Endotoxine des Erregers, und eine Erklärung hierfür gibt der Autor selbst: «Welche Rolle aber auch ein solches hypothetisches Endotoxin in der Pathogenese der Diphtherie spielen mag, es tritt an Wichtigkeit weit hinter dem Exotoxin, d. h. dem eigentlichen Toxin der Diphtheriebazillen, zurück.»

Unsere Aussagen über den Charakter der in unseren Untersuchungen gefundenen, nicht dem Toxin A zuzuschreibenden Wirkungen der Kulturfiltrate von Stämmen divergierender Krankheitsbilder haben wir wesentlich auf das Experiment mit den bevorzugten kleinen Laboratoriumstieren (Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen) und einige in vitro-Versuche mit Antitoxin, tierischen und menschlichen roten Blutzellen, Heparin und Human-Hyaluronsäure gestützt. Die bekanntlich stark verschiedene Empfindlichkeit gegenüber dem Toxin A des Diphtheriebazillus schon unter diesen Tierarten besteht auch für die zum Teil hier neu beschriebenen Wirkstoffe. Die Erfahrungen von *O'Meara, Balch* und *McNally* mit Großtieren enthüllten extreme Differenzen zum Meerschweinchenversuch, die auch für von uns gefundene Wirkstoffe erwartet werden können. Über die Reaktion des menschlichen Organismus auf diese Substanzen sind naturgemäß nur Vermutungen möglich, es sei denn, man bezieht diese Faktoren — wie im Ausgangspunkt unserer Untersuchungen — direkt auf bestehende Krankheitsformen der Diphtherie. Für das gereinigte nekrotisierende Präparat mag in Verdünnung die Intracutan-Testung in der menschlichen Haut vielleicht noch statthaft sein, die Anwendung des zusätzlich Spreading-Effekt entfaltenden Wirkstoffgemisches ist unter keinen Umständen vor näherer Kenntnis der damit verbundenen Gefahren möglich.

Vergleichen wir zum Beleg einige Daten von *O'Meara:* Ein Toxin B-haltiges formalinisiertes Präparat zeigte bei der Intracutan-Injektion am Meerschweinchen in 0,2 ccm — soweit der Beschreibung zu entnehmen ist — weniger als einer Drm entsprechende Reaktion; somit dürfte der Toxin A-Wirkgehalt mit ca. 0,005 Dlm/ccm angenommen werden. Trotzdem ließ sich eine Immunisierung von Pferden beginnend mit 1 ccm Filtrat nicht planmäßig durchführen. Bereits bei 28 ccm insgesamt verabreichten Impfstoffes innerhalb eines Monates waren bei den Tieren ausgedehnte, der Schwere folgende Oedeme aufgetreten, es bestanden Paralysen, und wenigstens eines der Tiere wies deutliche Symptome der Herzschädigung auf. Diese Feststellungen besagen: Die protrahierte Verabreichung über einen Monat von insgesamt höchstens 0,14 Meerschweinchen-Dlm formalinbehandelten, noch aktiven Toxin A in Gegenwart des B-Komplexes führte zu einer extremen und überhaupt nicht vorherzusehenden Schädigung der Serumtiere. Zum Vergleich sei angeführt, daß nach *Ramon* und *Lemétayer* eine Auswahl von Pferden entsprechend ihrer Reaktion auf intracutane Verabreichung *einer Dlm für Meerschweinchen* erfolgen kann, indem hier negativ reagierende Pferde sich für die antitoxische Diphtherie-Immunisierung besonders gut eignen (Angaben nach *H. Schmidt*). Somit darf angenommen werden, daß die einmalige 7fach höhere Gabe von Toxin A für Pferde als — bis auf eine örtliche Reaktion — ungefährlich betrachtet werden

muß. Wenn $^1/_7$ hiervon, über einen Monat verteilt, die oben skizzierten Krankheitsbilder verursacht, so weist dies eindeutig auf eine andere wirksame Noxe, den B-Komplex, hin.

Das Verhalten von Meerschweinchen bei einem ähnlichen Injektionsrhythmus unter Verwendung nicht formalinvorbehandelten PW8-Toxins erhärtet diese Aussage. *Prigge* behandelte 20 Meerschweinchen im Zeitraum von 26 Tagen mit je 20 — insgesamt aber nicht die Hälfte einer Dl_{100} ausmachenden — Injektionen. Am 36. Tag waren bei 15 der 16 überlebenden Tiere deutliche Lähmungserscheinungen aufgetreten. Die Beziehung der Giftmenge auf das Körpergewicht des Versuchstieres zeigt erst die enorme Differenz. Übrigens konnten *Niggemeyer* und *Dubrauszky* das Ergebnis *Prigges* mit nur 2 Injektionen im Abstand von 30 Tagen und mit der halben Giftdosis erreichen. Sie erklären ihre Beobachtungen mit der Interferenz zwischen Sensibilisierung und Teilimmunisierung oder im Hinblick auf klinische Beobachtungen über das Auftreten von Lähmungen nach schwerer, antitoxinbehandelter Diphtherie: «Der Besitz nicht hinreichender passiver oder aktiver Grundimmunität wirkt sich bei akuter Toxinüberflutung gleich aus, indem der initiale allgemeine Vergiftungskomplex abgeschwächt ist und überlebt wird, womit die Quote metadiphtherischer Erscheinungen zunimmt.»

Für das Pferd als Versuchstier ist eine anaphylaktische Reaktion gegenüber dem Toxin A nach Erfahrungen von *Hartley* wenig wahrscheinlich, während diese Möglichkeit für das Meerschweinchen nicht abgestritten werden kann. Das Problem der anaphylaxieverhütenden Wirkung von Toxin A *(Bronfenbrenner* und *Schlesinger)* wie seine interferierende Fähigkeit im in vivo-Hämolyseversuch *(Seemüller)* — die vielleicht sehr bedeutungsvoll ist — und die Tatsache, daß Tiere im Zustand nach anaphylaktischem Schock gegen Toxin A-Wirkung resistenter sind, sei nur gestreift. Frühere Untersuchungen unserer Klinik bei Anwendung von — im Meerschweinchen-Intracutantest wenig wirksamen — Fraktionen aus Bazillenleibessubstanzen beim Menschen, zum Teil in Selbstversuchen, ergaben überraschend schwere Lokal- und Allgemeinreaktionen (ausgedehnte Schwellungen, Nekrosen, Nausea, Fieber), und dies auch bei sicherem Bestehen einer hochgradigen passiven antitoxischen Immunität *(Ströder* und *Schneider, Niggemeyer).* Mit allergischen Reaktionen und primären Endotoxin-Wirkungen beim Menschen dürfte im Verlauf der Erkrankung oder nach vorhergehenden Erregerkontakten zu rechnen sein. Infektionsversuche an Meerschweinchen *(Fejes* und *Teveli)* sprechen in gleichem Sinne.

Mit der Hyperergie-Pathogenese der toxischen Diphtherie, die wir *Seckel* verdanken, wird man sich also weiter auseinanderzusetzen haben, wie *Ströder* in vorsichtigem Abwägen des Für und Wider feststellen konnte. Für die metadiphtherischen Komplikationen der Diphtherie bringt einseitige Betrachtung vom Toxin A-Standpunkt aus keinen Fortschritt. Unspezifische Wirkungen, die dem Krankheitsbild der postinfektiösen neurologischen Erkrankung in weitestem Sinne zugrunde liegen und im Modellversuch imitiert werden können *(Niggemeyer* und *Dubrauszky),* sollten mehr berücksichtigt werden.

Der Versuch eines Nachweises der reinen Giftwirkung als Lähmungsursache wird immer wieder mit Präparationen, die ihrer initial tödlichen Toxin A-Wirkung teilweise beraubt sind, unternommen (siehe *H. Müller*). Das hier so beliebte Formol wie die Zugabe von Toxin A neutralisierendem Antitoxin stören unter Aufhebung der initial tödlichen Wirkung dieses Giftes die Aktion anderer Stoffe weniger. Im Gegenteil kommen jetzt, bisher durch Toxin A-Wirkung überdeckte Prinzipien zur Wirkung, weil große Volumina injizierbar werden, ohne den unerwünschten Frühtod zu verursachen. Diese Überlegung, so einleuchtend sie ist, kann offensichtlich von dem in der unstatthaften Vereinfachung der alten Ehrlichschen Giftlehre befangenen Untersucher, der nur noch ein toxisches Prinzip des C. diphtheriae anerkennt und Kulturfiltrat gleich Toxin A setzt, nicht angestellt werden. Hier gibt es nur die stufenweise oder komplette Entgiftung eines Eiweißmoleküls mit einem Molekulargewicht von 72 000 und einigermaßen definierter Zusammensetzung. Wie man aus älteren Untersuchungen ersehen kann, ist dies nicht Verschulden der Ehrlichschen Schule. Damals kannte man ein Lähmungsgift — das Toxon —, dessen Eigenschaften (z. B. geringe Adsorptionsfähigkeit) von Toxin und erst recht dem Formoltoxoid deutlich unterscheidbar waren (siehe auch *Bechhold*). Die Abtrennung dieses Stoffes ist uns bisher nicht gelungen. Bekannt ist nur, daß zur Neutralisierung künstlich hergestellter sogenannter Lähmungsgifte (*Olitzki* u. Mitarb.) unverhältnismäßig hohe aktive oder passive Immunität bestehen muß *(H. Schmidt, Krech)*. Da in stark alkalischem Milieu gebildetes Toxin des PW8-Stammes die physiologischste Form des Lähmungsgiftes darstellt, könnte die zweite — alkalische — Phase des natürlichen Entzündungsprozesses bei Diphtherie bedeutungsvoll sein. Auf den Einfluß von Gewebsabbauprodukten (siehe auch *Semah*) wurde schon hingewiesen.

Die Einordnung des Spreading- wie des nekrotisierenden Faktors und erst recht des Hämolysins in eine der üblichen großen Gruppen Ekto- und Endotoxin wäre vorerst hypothetisch. Alle diese Stoffe finden sich in Kulturfiltraten auch jüngerer Kulturen. Über ihre antigenen Fähigkeiten ist bis auf positive Befunde von *O'Meara, H. Schmidt* sowie *Niggemeyer* nichts bekannt. Solche Substanzen sind im PW8-Gift spärlich gegenüber dem Toxin A, das auch in relativ kleinen Mengen eine mögliche Antikörperbildung gegen diese Produkte oder Bestandteile des C. diphtheriae

unterdrückt. *Havens* u. Mitarb. und *Balch* haben auf die Vorzugsstellung in der Bildung des gegen Toxin A gerichteten Antikörpers hingewiesen. Nach unseren Befunden muß der Spreading-Effekt mancher Diphtherie-Kulturfiltrate auf eine bakterielle Hyaluronidase zurückgeführt werden. Fermente sind im allgemeinen wenig antigen, und der gegen ein Ferment gerichtete Antikörper hemmt meist die biologische Wirksamkeit des Stoffes nur begrenzt. Aber Beispiele von Schutzwirkung gegen tierische und pflanzliche bzw. bakterielle Fermente enthaltende Gifte durch spezifische Antikörper sind hinreichend bekannt, z. B. gegen Lecithase A, Hyaluronidasen und Ureasen. Somit scheint der Versuch der Herstellung von Immunsera und Impfstoffen polyvalenter Wirksamkeit auch gegenüber der diphtherischen Infektion und ihrer Folge — der Intoxikation — möglich zu sein.

Schlechte Erfahrungen bei den ersten Versuchen in dieser Richtung verdeutlichen, daß neue Wege beschritten werden müssen. Der von *O'Meara* als Irrweg bezeichnete Entwicklungsgang der Serumherstellung in seiner einseitigen Ausrichtung auf Toxin A und dessen Antikörper bietet nach Erkennung der Fehlerquellen den Schlüssel zum Verständnis für das jetzt Erforderliche. Es gilt, Nährmedien zu schaffen und Stämme des C. diphtheriae zu finden, die große Ausbeute an einzelnen — möglichst nur einem — der wirksamsten Prinzipien gewährleisten. Erste Ansätze sind aus unseren Untersuchungen zu entnehmen. Es wird noch ein langer und mühevoller Weg zu beschreiten sein, bis praktisch ausnutzbare Ergebnisse vorliegen. Nur nach Erfüllung der skizzierten Voraussetzungen werden unsere Untersuchungen — über den Rahmen der Pathogenese-Forschung hinaus — praktische Bedeutung gewinnen. Für das Toxin A — dies kann auf Grund fremder und eigener Untersuchungen mit Sicherheit ausgesagt werden — spielt die Existenz serologischer Typen des C. diphtheriae keine Rolle. Toxin A jeglicher Provenienz wird durch das gegen PW8-Toxin gerichtete Antitoxin neutralisiert. Sollte sich dies in weiterem Sinne, d. h. für alle, auch die neu bekannt gewordenen pathogenen Stoffe des C. diphtheriae (siehe den nekrotisierenden Faktor), bestätigen, so könnten althergebrachte und bewährte Methoden zur Gewinnung von Antisera benutzt werden. Zweckmäßig erscheint es, jeweils ein Tier zur Immunisierung gegen nur einen — möglichst rein vorliegenden — Wirkstoff heranzuziehen und das gegen alle faßbaren Faktoren gerichtete polyvalente Serum

durch Mischung der Einzelfraktionen darzustellen. Über die in praxi günstigste Korrelation der Antikörper solcher Mischseren können noch keine Aussagen gemacht werden. Nach unseren Erfahrungen mit Gravis-Toxinen im Tierexperiment müßte das Serumvolumen, welches 1 Dlm Toxin A neutralisiert, die durch Hyaluronidase hervorgerufene Quaddelausbreitung (ca. 3 × 4 cm) auf die Größe der Kontrollreaktion (1,5 × 2,0 cm) beschränken und eine Primärnekrose von 0,5 cm Durchmesser bei intradermaler Injektion völlig unterdrücken. Bei dieser Schätzung ist die Annahme zugrunde gelegt, daß ca. 10 Dlm resorbiertes Toxin A für ein Kind tödlich ist.

Die Frage der partiellen oder totalen Entgiftung bei Erhalt der antigenen Fähigkeiten bedarf nach den Erfahrungen von *O'Meara* mit dem formalinbehandelten Komplexgift weiterer und detaillierter Bearbeitung, ohne welche eine Ausdehnung auf das — aus früher angeführten Gründen dringliche — Problem der aktiven Schutzimpfung des Menschen nicht gelöst werden kann. Die prinzipielle Möglichkeit einer weitgehenden Differenzierung von Wirkstoffen konnte von uns für Toxin A, Hyaluronidase, nekrotisierenden Faktor und Hämolysin erbracht werden.

Der Versuch, das antitoxische mit dem antibakteriellen Prinzip zu verknüpfen, hat bisher nicht zu brauchbaren Ergebnissen geführt. Dies ist einmal durch die Existenz serologischer Typendifferenzen innerhalb der Spezies C. diphtheriae bedingt, zum anderen in der Unfähigkeit des bevorzugten Serumspenders, des Pferdes, zur Beta-Lysin-Bildung *(Pettersson)* begründet. *Pernice* gelang zwar die Herstellung eines antibakteriellen Serums von Kaninchen, doch hatte dieses im Schutzversuch bei Meerschweinchen keine deutliche Wirkung. In neuester Zeit mitgeteilte (bereits 1935/36 durchgeführte) Untersuchungen von *Maitland, Marshall, Petrie* und *Robinson* über Immunisierung von Pferden mit den drei klassischen Wuchsformen des C. diphtheriae (Gravis-serologischer Typ I nach *Robinson* und *Peeney,* Intermedius und Mitis) hatten, was den Ausgang angeht, kaum bessere Ergebnisse als das Unternehmen *O'Mearas* mit Toxin B. Verwendet wurden mehrfach gewaschene, phenolisierte und gelagerte Keimaufschwemmungen. Die Verabreichung erfolgte, wie üblich, intravenös. Unter fortschreitender Immunisierung traten Überempfindlichkeitsreaktionen auf. Vor Übergang auf Injektion lebender Erreger wurde eine Serie von Diphtherietoxoidgaben eingeschaltet, bis jedes der Tiere etwa 100 A.E./ccm Serum bildete; war doch am Lister-Institut die Erfahrung gemacht worden, daß der Versuch der Immunisierung mit lebenden virulenten Erregern für das Versuchstier trotz einer maximalen Konzentration von spezifischen (antibakteriellen) Antikörpern im Blut mit einem großen Risiko des tödlichen Ausgangs belastet ist. Dieser sollte durch Erwerb auch antitoxischer Immunität verhindert werden. Anschließende Injektionen lebender Erreger führten den plötzlichen Tod der Tiere herbei (aus der Original-Mitteilung ist dies für mit Mitis

und Intermedius immunisierte Tiere angegeben, bei Pferd «Gravis» wurde daraufhin wohl auf weitere Versuche verzichtet). Das gewonnene Anti-Gravis-Serum hatte einen Agglutinationstiter von 1 : 3200 bzw. bei einer späteren Blutentnahme 1 : 6400. Beide Proben enthielten 0,2 A.E./ccm Serum. Im Schutzversuch bei (mit dem homologen Stamm) infizierten Meerschweinchen war dieses Präparat dem Normalserum des gleichen Pferdes — abgenommen vor Beginn der Immunisierung und nachträglich mit 0,2 A.E./ccm Antitoxin versetzt — eindeutig überlegen. Dies drückte sich vor allem in dem selteneren kulturellen Nachweis von Diphtheriebazillen in Herzblut und inneren Organen aus. Deutliche Vorteile gegenüber den Kontrollen zeigten auch durchschnittliche Überlebenszeit und Sterblichkeitsrate. Von 94 mit dem antibakteriellen Serum geschützten Tieren erlagen 23, in der Kontrollreihe mit gleich hohem Antitoxinschutz 82 und in der völlig unbehandelten Gruppe sämtliche Tiere der Infektion. Im klinischen Versuch wurde Anti-Gravis-Serum alternierend zusammen mit Normal-Antitoxin gegen letzteres allein bei sonst gleicher Behandlung getestet. Ergab die bakteriologische Prüfung, daß ein Krankheitsfall nicht diesem Gravis-Typ zuzuschreiben war, so wurde auf dessen Auswertung verzichtet. Bei allen Patienten bestand das Krankheitsbild der toxischen oder hypertoxischen Diphtherie. Anti-Gravis-Serum bewirkte keine Senkung der Letalität, wohl aber schnellere Rückbildung der Lokalläsionen, und in einigen Fällen eine geringgradige Besserung des Allgemeinbefindens, vielleicht eine Verlängerung der Überlebenszeit.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung stimmen im wesentlichen — nach Angabe der Autoren — mit einer inzwischen erschienenen Mitteilung von *Sordelli* u. Mitarb. überein, ihre Bedeutung im Zeitalter der Antibiotica ist von geringem praktischem Wert. Sie decken sich nicht mit den von *O'Meara* und *McSweeney* mitgeteilten dramatischen Erfolgen des Anti B-Serums. Die Fähigkeiten des C. diphtheriae, pathogene Substanzen zu produzieren und an die Umgebung abzugeben, wechselt von Stamm zu Stamm. Auch finden sich große Unterschiede in der Korrelation dieser Stoffe bei differenten Erregertypen. Die Wirkung eines möglichen Antikörpers gegen den einzelnen Faktor muß als antitoxisch oder antiinvasiv — damit zwar antiinfektiös, aber nur indirekt antibakteriell — betrachtet werden. Mit der Erzielung so wirksamer Heilserumpräparate und zur aktiven Immunisierung verwendbarer Impfstoffe sind die Grenzen dessen erreicht, was Bakteriologie und Serologie dem Kliniker an spezifisch wirksamen Vorbeugungs- und Heilmitteln gegenüber der Diphtherie — auch ihrer malignen Verlaufsform — nach theoretischem Ermessen überhaupt in die Hand geben können.

Anlaß der vorliegenden Arbeit waren weniger theoretisch bakteriologische und serologische Problemstellungen als die dem Pä-

diater am Krankenbett entgegentretende Realität. Gefundene Tatsachen und ihre Interpretierung werden naturgemäß hierdurch stark beeinflußt. Die durch Ausweitung des Wissens notwendig gewordene zunehmende Spezialisierung der Einzeldisziplinen der Medizin läßt es nicht mehr zu, daß der klinisch tätige Arzt Probleme, wie die vorliegenden, zu Ende führt. Aber es ist seine Pflicht, offene Fragestellungen unter hinreichender Begründung der Notwendigkeit ihrer Bearbeitung aufzuzeigen. Nur daraus kann letztlich eine für den erkrankten Menschen segensreiche Zusammenarbeit zwischen behandelndem Arzt und bakteriologisch-serologisch tätigem Wissenschaftler resultieren. Zur endgültigen Lösung des Komplexes wird auch die Mitarbeit des Pharmakologen und Toxikologen wie des biologischen Chemikers erforderlich sein. So kann die Gefahr einer einseitigen Betrachtungsweise, deren Folgen *O'Meara* wie *Geiger* und *Marshall* am Beispiel des Entwicklungsganges der Diphtherie-Lehre so überzeugend darlegen, überwunden werden.

Schon Untersuchungen von *O'Meara* ergaben, daß die Toxin B-Wirkung seiner Hypothese nicht streng an eine bestimmte Wuchsform des C. diphtheriae gebunden war. Auch bestanden im Einzelfall deutliche Differenzen zwischen Schwere des von einem Diphtherie-Stamm erzeugten Krankheitsbildes und der Fähigkeit seiner Erreger, die oben genannte Aktivität an seinen Kulturfiltraten zu demonstrieren. Eine Übertragung der hier neu gebotenen und fundierten Konzeption auf die Pathogenese der Diphtherie berücksichtigt diese Vorkommnisse.

Es kann keine Rede davon sein, daß es heutzutage möglich wäre, die verschiedenen und zum Teil interferierenden Wechselbeziehungen zwischen Mensch und Diphtheriebazillus ausreichend zu übersehen. In Beschränkung auf die vorliegende Untersuchung kann für das Krankheitsbild der Diphtherie und seine besonderen Verlaufsformen ausgesagt werden, daß qualitativ und quantitativ divergierende Leistungen des C. diphtheriae und nahestehender Keime in spezieller Weise die klinische Symptomatik bestimmend beeinflussen können.

Caselitz wie *Lippelt* und *Caselitz* wollen unter Verwerfung aller sonstigen, bisher üblichen Kriterien der Einteilung von Corynebakterien diese einzig nach dem von ihnen modifizierten Titrationsverfahren *Schlirfs* auf Grund des Verhaltens gegen Kohlenhydrate mühelos unterteilen können, wenn nicht das morphologische Bild schon die Abgrenzung von Pseudodiphtheriebazillen gestattet. Gleichzeitig gelingt es ihnen mit Sicherheit, Gravis-, Mitis- und Inter-

mediusformen zu differenzieren. Es wurden über 1000 Stämme «echter» Diphtheriebazillen geprüft. Nach der Häufigkeit des Vorkommens muß die Erfahrung mit diphtheroiden Erregern noch um vieles größer sein. Da die Autoren diesen besondere Aufmerksamkeit schenkten und ihrer Auffassung Allgemeingültigkeit verleihen möchten, ist eine Stellungnahme berechtigt. *Caselitz* sah bei sogenannten Paradiphtheriebazillen in Bouillon kein für diese allein typisches Wachstum. Viele Stämme wuchsen mitisähnlich, d. h. mit Trübung und Bodensatz, einige ließen die Bouillon fast klar und zeigten geringen Bodensatz. «Das für Gravisstämme charakteristische Wachstum: Oberflächenhäutchen, krümeliger Bodensatz, wurde bei diesen Stämmen nie beobachtet.» Unser Befund des von einem wohldefinierten Krankheitsbild gewonnenen Erregers (Stamm 1) und seine Wachstumseigenschaften in Bouillon, sein spezielles, mit anderen Corynebacterien übereinstimmendes lokaltoxisches Prinzip zeigen Gefahren der isolierten bakteriologischen Betrachtungsweise auf. Der von obengenannten Autoren gemachte Vorschlag, nur noch von pathogenen und apathogenen Corynebacterienstämmen zu sprechen, da alles andere letzten Endes nur Verwirrung in der Klinik hervorrufe, ist unverständlich, wenn man die praktische Folgerung daraus im konkreten Fall zu Gesicht bekommt: *Schuback* und *Sattler* berichten — offensichtlich unter dem Einfluß von *Lippelt* und *Caselitz* — über einen tödlich verlaufenen Fall von Endocarditis ulcerosa durch Paradiphtheriebakterien mit wörtlich wiedergegebener Argumentation. «Als Erklärung für diesen schweren Krankheitsverlauf durch gemeinhin (und offenbar durchaus mit Recht) als apathogen angesehene Keime muß die verminderte Resistenz des Patienten durch den Diabetes mellitus angesehen werden.»

Für die Praxis kann angenommen werden, daß große Unterschiede in der Pathogenität der Corynebacterien bestehen, jedoch eine bakteriologische Einteilung in pathogene und apathogene Organismen — entgegen der Anschauung von *Lippelt* und *Caselitz* — geeignet ist, in der Klinik Verwirrung anzustiften. Hier erscheint die altgewohnte Unterteilung in typische Diphtheriebazillen und Pseudodiphtheriebazillen sinnvoller, auch wenn Pseudodiphtheriebazillen an diphtherieähnlichen Krankheitsbildern (Croup, Tonsillitis mit confluierenden Belägen, blutigseröse Rhinitis usw.) Anteil nehmen. Werden doch hier, wie bei sonst echten, aber nicht toxigenen Diphtheriestämmen die typischen metadiphtherischen Erkrankungen vermißt.

Die Wirkung des C. diphtheriae, eines fakultativ pathogenen Mikroorganismus, auf seinen Gastgeber (im allgemeinen Sinne also zufälligen Nährboden), kann durch dessen Abwehrreaktionen vermindert, in ihrem Charakter geändert oder gar aufgehoben werden. Die ständigen Anpassungsvorgänge, welchen beide Partner unterworfen sind, bestimmen das Bild der als Pathomorphose bezeichneten temporären Charakteränderung der Diphtherie als Volksseuche.

Aus statistischen Erhebungen zieht *Rendu* die Schlußfolgerung, daß überhaupt nur 5—7% der Kinder in den ersten 15 Lebensjahren an Diphtherie erkranken, und 10—15% aller gegen Diphtherie Geimpften für die Erkrankung empfänglich bleiben. Diese Zahlenangaben durften der Lehre von dem entscheidenden Einfluß der Konstitution für die Erkrankung — etwa im Sinne

Hamburgers — als Stütze dienen, solange die Annahme berechtigt war, der Besitz von Antikörpern gegen Toxin A sei der wirksame Schutz vor Erkrankung. Existieren, wie nachgewiesen, mehrere pathogene Eigenschaften des C. diphtheriae, so sind die Grundlagen vorgenannter Untersuchungen zu überprüfen.

Man kann nun die Kenntnisse über Lebensäußerungen des C. diphtheriae zu seiner natürlichen Umwelt, der menschlichen Schleimhaut, in Beziehung setzen, wobei um der größeren Klarheit des Bildes willen die Möglichkeiten der spezifischen Abwehr durch den Makroorganismus (erworbene Immunität) weitgehend vernachlässigt werden. Die Infektion kann passagere, selten bleibende Besiedlung der Schleimhaut durch den Bazillus mit oder ohne Krankheitszeichen zur Folge haben. Für den weiteren Verlauf sind Eigenarten des Milieus wie des C. diphtheriae bestimmend.

Die natürliche Resistenz der gesunden Schleimhaut und eine ausgeglichene Begleitflora vermögen hinreichende Wachstumshemmung zu bewirken und hierdurch eine manifeste Erkrankung zu verhüten. Es resultiert das Bild eines Kontaktbazillenträgertums ohne oder mit Entwicklung einer spezifischen Immunität gegen Gifte des Erregers. Dieser Zustand des labilen Gleichgewichtes kann jederzeit durch Änderung nur einer Kondition in manifeste Krankheit umschlagen. Die praktisch klinische Bedeutung der Störung dieser Balance ist bekannt. An die umfangreiche Literatur über speziellen Bakterien-Antagonismus — hervorzuheben ist hier die neuere Arbeit von *Berger* —, die Rolle der Schleimhautschädigung und des Nachlassens der allgemeinen Widerstandskraft sei erinnert.

Diphtheriestämme, deren Vermögen, sich dem natürlichen Nährboden anzupassen, nicht hinreicht, werden schnell eliminiert, während zu weitgehender Adaptation befähigte Erreger bei ausreichenden pathogenen Fähigkeiten zur klinischen Erkrankung führen können. Tierexperimentelle Untersuchungen von *Wildführ* stützen die Auffassung, daß eine Durchbrechung vorhandener Immunität des Makroorganismus durch einseitige Entwicklung bestimmter, früher unbedeutender Erregerfähigkeiten erfolgen kann.

Es bestehen fließende Übergänge vom Bazillenträgertum zum klinisch diagnostizierbaren diphtherischen Krankheitsbild. Der namengebende Charakter der lokalen Läsion ist keine conditio sine qua non, aber fast die Regel. Tonsillardiphtherien können als Angina catarrhalis (Diphtérie rouge der französischen Schule) oder lacunaris verlaufen. Diese wie Fälle atypischer Lokalisation — von epidemiologischer Bedeutung — offenbaren manchmal ihren wahren Charakter durch das Auftreten typischer metadiphtherischer Komplikationen, während ein isolierter bakteriologischer Befund weder Klarheit schafft noch therapeutische Bedeutung gewinnt. Eine rechtzeitige klinische Differenzierungsmöglichkeit zwischen unspezifischer Angina bei Diphtheriebazillenträgern und Diphté-

rie rouge existiert nicht. Die Verabreichung von Antitoxin ist zwar üblich, aber Aussagen über den Wert dieser Maßnahme können hier kaum gemacht werden. Nachweisliche Beziehungen zwischen der Fähigkeit des Erregers, Beläge hervorzurufen und metadiphtherische Erkrankungen zu erzeugen, bestehen nicht. Der Beitrag des menschlichen Gewebes zur Pseudomembranproduktion muß nach klinischer Auffassung relativ groß und mit der Reifung der Abwehrfunktion oder Permeabilitätsproblemen verknüpft sein, wie auch aus Angaben von *Marfan, Blechmann* und *Chevalley* über das Vorkommen pseudomembranöser Anginen bei jungen Kindern entnommen werden kann. Analogien hierzu finden sich in der Reaktion des Säuglings gegenüber Staphylokokkeninfektionen. Wegen der uncharakteristischen Lokalbefunde trotz schwersten allgemeinen Krankheitsbildes prägten *Goebel* und *Ströder* den Begriff der «diphtherischen Intoxikation des Säuglings».

Für die Krankheitstypen des Escherich-Seckel-Schemas unter weitgehendem Verzicht auf dissonante Krankheitsbilder im Sinne *Zischinskys* sind Korrelationen mit bestimmten Erregereigenschaften leicht herzustellen.

Die Berücksichtigung der Eigenarten bestimmter Stämme (divergierende Wachstumsintensität und Toxin A-Bildung, Produktion von Hyaluronidase und nekrotisierendem Faktor), spezifische und unspezifische Abwehrreaktionen des Makroorganismus ergeben eine Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten, die der Mannigfaltigkeit der Verlaufsformen des Krankheitsbildes mehr gerecht wird als die klassische Giftlehre.

Die sogenannte lokalisierte Diphtherie: Ihrer Definition nach — und hier sei auf *H. Koch* verwiesen — bleibt die pseudomembranöse Veränderung nach schneller Erreichung ihres Höhepunktes auf einen engbegrenzten Bereich beschränkt. Unbehandelt kann der Prozeß unter Umständen wochenlang stationär bleiben, auch rezidivieren, um schließlich auszuheilen. Metadiphtherische Komplikationen sollen zu den Seltenheiten gehören. Die Wirkung des Antitoxins ist nach *Escherich* wie auch neueren Erfahrungen *Hottingers* gering. Leichtes Überwiegen von pathogenen Erregereigenschaften, vor allem des nekrotisierenden Faktors, über die Abwehrreaktionen des Makroorganismus kann als sinnfällige Erklärung gelten. Als häufigster Bazillentyp soll Mitis gefunden werden. Aber auch die Umkehr dieser Verhältnisse, d. h. intensive nekrotisierende und Toxin A-Wirkung ist denkbar und dem Kliniker in Form eines selteneren Krankheitsbildes, der von *Friedemann, v. Bokay, Carrière* sowie *Niggemeyer* beschriebenen primär

hämorrhagisch-nekrotischen Form der lokalisierten Diphtherie bekannt. Die Annahme, daß dieses Krankheitsbild seit Einführung der Serotherapie erheblich viel seltener geworden ist, kann sich auf bis ins Altertum gehende Berichte stützen.

Die progrediente Diphtherie: Ihre im Kindesalter häufigste Form, der diphtherische Croup, kann auf eine Unfähigkeit der Schleimhaut, den Prozeß — an welchem Erreger vom Pseudodiphtheriebazillus bis zum Intermedius häufiger beteiligt sind als Gravisstämme — zu begrenzen, zurückgeführt werden. Vorhergehende unspezifische Schleimhautschädigung und Resistenzminderung begünstigen die Entwicklung dieser Verlaufsform. Geradezu als Modellbeispiele können der kombinierte Masern-Diphtheriecroup und die schleichenden Diphtherieformen bei Schwächung der Abwehrkräfte, z. B. die sog. Kriegsgefangenen-, Konzentrationslager- und Hungerdiphtherie betrachtet werden. Die Wirkung des Diphtherieserums ist eine zweifache, indem neben dem antitoxischen Prinzip die Eiweißkomponente einen unspezifischen Reizkörpereffekt darstellt.

Die progrediente Diphtherie des Rachens neigt — wohl auf Grund anatomisch bedingter Unterschiede — eher zu toxischen Allgemeinerscheinungen und stellt eine Übergangsform zur toxischen Diphtherie dar. Die Toxin A-Resorption ist der größeren Ausdehnung des Belages entsprechend höher als bei lokalisierter Diphtherie. Hierin unterscheidet sich das Krankheitsbild auch von der Larynx- und Trachealdiphtherie, bei welcher die Glashaut vor größerer Giftaufnahme zu schützen scheint. Die besondere Neigung der progredienten Rachendiphtherie, sekundär toxisch zu werden, weist auf eine — neben der nekrotisierenden Fähigkeit — stärkere Toxin A-Wirkung hin. Dies stimmt mit den Erfahrungen über in vitro-Giftbildung von Intermediusstämmen gut überein.

Die toxische Diphtherie: Ihre Symptomatik ist vor allem durch *Hottinger* scharf umrissen worden. Als Erreger werden vorwiegend Gravisstämme gefunden. Der stark wirksame nekrotisierende Faktor durchbricht die Epithelschicht, Hyaluronidase ermöglicht die Invasion von Erregern, die Resorption des sekundär am Gefäßapparat schwere Permeabilitätsstörungen erzeugenden Toxin A *(Ströder, Dieckhoff)* und erschließt dem Bazillus einen großen und günstigen Lebensraum. Toxin A wird auch bei höherem Fe-Gehalt der Umgebung und schon in saurem Milieu reichlich gebildet. Aus dem in vitro beobachteten schnellen Umschlag der pH von sauer

nach alkalisch kann auf ähnliche Vorgänge im natürlichen Geschehen geschlossen werden. Antitoxin — gegen Hyaluronidase gar nicht, und gegen den nekrotisierenden Erregerwirkstoff wenig wirksam — vermag auch in stärker alkalischem Milieu gebildetes Toxin A kaum zu neutralisieren. Dies deckt sich mit den klinischen Erfahrungen.

Der Tod bei hypertoxischer Diphtherie — hervorgerufen durch Erregerstämme besonderer Bösartigkeit — tritt unter cerebralen Erscheinungen schon zu einem Zeitpunkt ein, in welchem die Lokalsymptome der toxischen Diphtherie, sich überstürzend, ihren Höhepunkt kaum erreicht haben. Jeder Therapieversuch kommt zu spät.

Neben die bisher beschriebenen, im wesentlichen nur durch den Diphtheriebazillus erzeugten Krankheitsbilder treten fast gleichwertig Mischinfektionen, unter denen gewisse Anaerobier und vor allem hämolysierende Streptokokken von Bedeutung sein können. Sie komplettieren die Fähigkeiten des C. diphtheriae — auch anderer als der Graviswuchsformen — so weitgehend, daß ein dem klinischen Bild der toxischen Diphtherie entsprechender Krankheitsverlauf entstehen kann. Diese seit langem vertretene Auffassung wurde jetzt von *Koch* und *Roemer* erneut gestützt und ist durch Tierexperimente von *O'Meara* gerade im Hinblick auf die sog. Toxin B-Wirkung fundiert worden. Die klinische Abtrennung vom Krankheitsbild der echten toxischen Diphtherie wäre aus therapeutischen Gründen erwünscht, ist aber nur in gewissen Grenzen möglich. Für diese Fälle ist antibiotische neben der antitoxischen Therapie eine geradezu notwendige Maßnahme, die vielleicht wegen der Schwierigkeiten der Abgrenzung gegenüber «reiner» Diphtherie in jedem Fall betrieben werden sollte.

Erfahrungen mit divergierenden klinischen Erscheinungen bei Geschwistererkrankungen, hervorgerufen durch denselben Erregerstamm, verdeutlichen, daß nicht nur die Eigenschaften des Bazillus, sondern vor allem auch Reaktionen seines Wirtes die klinischen Symptome formen. Schon die Vorstellung mehrerer möglicher pathogener Prinzipien und unter Umständen isolierte Entwicklung von Antikörpern gegen eines derselben — für die Diphtherie grundsätzlich von *Sherwood* und *Pappenheimer* nachgewiesen — bedingt eine nur lockere Verknüpfung der Wuchsform des C. diphtheriae mit dem resultierenden Krankheitsbild, wie es ja auch der klinischen Realität entspricht. Daß die große Linie unserer Konzeption trotzdem in der Praxis eingehalten wird, kann aus einer Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Diphthe-

rie in ihren klassischen Formen unter Bezug auf die Altersverteilung, Immunität gegen Toxin A wie Allergie gegen Diphtherieantigene verglichen mit der Frequenz toxisch bedingter Komplikationen abgelesen werden (Abb. 9 und Tab. II).

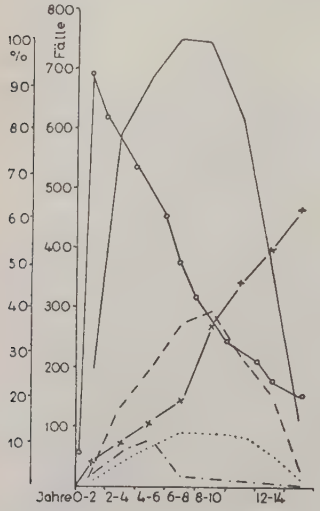

Abb. 9. In Zahlen angegeben ist die Verteilung der initialen Krankheitsbilder (lokalisierte Nasen- oder Rachendiphtherie ——; diphtherischer Croup -·-·-·; progrediente Rachendiphtherie ----; toxische Diphtherie ....) bezogen auf Altersgruppen nach dem Krankengut der Akademischen Kinderklinik Düsseldorf 1932—1939. Zum Vergleich ist die Häufigkeit positiver Schick- (o—o—o) und Zoellerreaktionen (×—×—×) nach der nach der Darstellung von Seckel eingetragen.

TABELLE II.

(Entnommen aus der Arbeit *Niggemeyer* und *Dubrauszky*.)

Art des initialen Krankheitsbildes und die Beziehung zu para- bzw. metadiphtherischen Erkrankungen.

(Krankengut der Jahre 1932—1939, Akademische Kinderklinik Düsseldorf.)

Komplikationen	Nasen-Diphtherie (361 Fälle)	Stenose ohne Todesfälle (171 Fälle)	Initialbefund der Rachendiphtherie (ohne Todesfälle)		
			leicht (4239 Fälle)	mittelschwer (1492 Fälle)	schwer (309 Fälle)
Myokardschaden	6,09%	6,43%	8,63%	29,22%	76,7 %
Nierenschaden	18,6 %	38,7 %	30,8 %	54,33%	85,71%
Pseudotabes diphtherica	0,55%	0,58%	0,09%	2,75%	25,57%

Für die Initialbefunde der Rachendiphtherie ist leicht = lokalisiert, mittelschwer = progredient, und schwer = toxisch zu setzen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Für Hilfe in Einzelfragen bzw. Überlassung von Materialien und Stämmen bin ich Herrn Prof. *H. Schmidt*, Marburg/Lahn, Herrn Prof. *C. Sonnenschein*, Hyg. Inst. d. Universität Würzburg, und Herrn Prof. *W. Wepler* vom Path. Inst. d. Universität Würzburg, den Behring-Werken Marburg/Lahn, der Deutschen Hoffmann-La Roche-AG. Grenzach (Baden) und der Schering AG. Berlin zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Die bisherigen Vorstellungen über das Wesen der diphtherischen Erkrankung und ihrer divergierenden Verlaufsformen sind unbefriedigend.

Das auf der klassischen Giftlehre beruhende therapeutische Vorgehen durch Anwendung eines antitoxischen Prinzips — das sogenannte Diphtherie-Heilserum — hat nicht alle Erwartungen des Klinikers erfüllt.

Die hier vorliegenden Untersuchungen an frisch vom Krankenbett isolierten wie Laboratoriumsstämmen des Corynebacterium diphtheriae zeigen, daß neben Hämolysin und dem klassischen Diphtheriegift von einer größeren Zahl beliebiger Stämme ein bisher unseres Wissens unbekannter, nekrotisierender Faktor gebildet werden kann. Seine Bedeutung für die Entwicklung der Schleimhautläsion im Erkrankungsfall dürfte größer sein als die des klassischen Giftes.

Bestimmte Stämme der Gravis-Wuchsform bilden außerdem eine Hyaluronidase.

Das Toxin B *O'Mearas* ist ein Giftkomplex, in dem zumindest zwei, wahrscheinlich die vier genannten pathogenen Faktoren in wechselnden Mengenverhältnissen enthalten sein können.

Geprüfte, im Handel befindliche Antitoxinpräparate schützen sicher vor dem klassischen Gift aller Stämme. Einzelne Chargen enthalten auch geringe Mengen von Wirkstoffen gegen den nekrotisierenden Faktor, während eine Wirksamkeit gegen Hämolysin und Hyaluronidase vermißt wurde.

Die Bedeutung der Befunde wird im Hinblick auf die Pathogenese der Diphtherie und die sich ergebenden Problemstellungen für Antitoxin- und Impfstoffbeschaffenheit diskutiert.

Summary.

Up to date conceptions of the nature of diphtheria and of its divergent causes are unsatisfactory.

The therapeutic procedure, based on the classic teaching of toxaemia, of administering an antitoxic remedy—the so-called diphtheria serum—did not fulfil all the expectations of the clinician.

The present investigations, carried out on freshly isolated strains obtained from clinical material, and on laboratory strains, demonstrate that, besides haemolysine and the classic diphtheria toxin, from a considerable number of various strains a necrosis-

producing factor, hitherto unknown as far as we are aware, can be formed. Its importance for the development of the damage to the mucous membrane is probably greater than that of the classic toxins.

Certain strains of the Gravis type produce also a hyaluronidase.

O'Meara's toxin B is a complex toxin, containing probably the four above-mentioned pathogenic factors in varying proportions.

Tested commercial antitoxin preparations give a sure protection against the classic toxin of all the strains. Some batches also contain small quantities of substances which will prevent necroses, while substances antagonistic to haemolysine and hyaluronidase were absent.

The importance of these findings for the pathogenesis of diphtheria and for the problems concerning the antitoxin qualities is discussed.

Résumé.

La diphtérie et son polymorphisme ne trouvaient jusqu'ici aucune explication satisfaisante. La thérapeutique par les antitoxines (sérum antidiphtérique) découlant de la pharmacologie classique ne réalisa pas les espoirs des cliniciens.

L'auteur examinant des souches de corynébactérium diphtheriae provenant d'une part de malades et d'autre part de cultures de laboratoire démontrent que différentes souches produisent outre l'hémolysine et la toxine diphtérique, toutes deux bien connues, un facteur inconnu jusqu'ici qui exerce un pouvoir nécrotisant. Il semblerait que le rôle joué par ce facteur dans le développement des lésions au niveau des muqueuses soit plus grand que celui de la toxine.

Certaines souches de type gravis produisent en outre une hyaluronidase.

La toxine B de *O'Meara* est complexe. Elle contient 2, peut-être même les 4 facteurs cités, en proportions variables.

L'examen d'antitoxines en vente dans le commerce a montré leur pouvoir protecteur contre la toxine « classique » provenant de n'importe quelle souche. Certains échantillons protègent aussi du facteur nécrotisant, tandis qu'il n'a été trouvé aucune action contre l'hémolysine et l'hyaluronidase.

Le problème de la composition des antitoxines et des vaccins ainsi que la pathogénie de la diphtérie sont discutés en relation avec ces faits nouveaux.

Literatur.

Abraham, H.: Diss., Hamburg 1936. — *Anderson, J. S., F. C. Happold, J. W. McLeod* und *J. G. Thompson:* J. Path. Bact. *34,* 667, 1931 u. *36,* 169, 1933. — *Artigas, R. M.:* Ann. Hosp. *6,* 161, 1932. — *Aufdermauer, M.,* und *H. Zellweger:* Schweiz. med. Wschr. *76,* 25, 1946. — *Balch, H. H.:* J. Immunol. *64,* 397, 1950. — *Bechhold, H.:* Arb. aus d. Inst. f. exper. Therapie, Frankfurt a. M. Fischer, Jena 1919, H. 7. — *Behring, E. v.:* Dtsch. med. Wschr. *1890,* Nr. 50; Die Blutserumtherapie. I. Leipzig 1892. — *Behring, E. v.,* und *S. Kitasato:* Dtsch. med. Wschr. *1890,* Nr. 49. — *Berger, U.:* Schweiz. med. Wschr. *81,* 130, 1951. — *Bertin, A.:* Gaz. Méd. de Nantes 1895. — *Bieling, R.,* und *L. Oelrichs:* Z. Hyg. *117,* 792, 1936. — *Bingel, K.:* Z. Hyg. *124,* 164, 1942; Dtsch. med. Wschr. *1949* I, 101 und *1950* II, 1585. — *Blechmann, G.,* und *M. Chevalley:* Le Nourrisson *10,* 44, 1922. — *Böhning, F.:* Diphtherie und Konstitution. Thieme, Leipzig 1937. — *Bokay, J. v.:* Erg. inn. Med. *42,* 463 und *43,* 428, 1932. — *Bordet, P.:* Ann. Inst. Pasteur *61,* 618, 1938. — *Bormann, F. v.:* Z. Kinderheilk. *46,* 233, 1928; Erg. inn. Med. *45,* 433, 1933. — *Bretonneau, P.:* Traité de la diphtérie. Paris 1826 (dtsch. v. M. Nülle, Berlin 1927). — *Brieger, L.,* und *C. Fraenkel:* Berl. klin. Wschr. *241,* 268, 1890. — *Bronfenbrenner, J.,* und *M. J. Schlesinger:* Proc. Soc. exper. biol. Med. *18,* 147, 1921. — *Carrière, G.:* La diphtérie. Masson et Cie, Paris 1936. — *Caselitz, F. H.:* Z. Hyg. *130,* 112, 1949. — *Clauberg, K. W.:* Klin. Wschr. *1933* I, 969 und *1939* II, 1490. — *Clauberg, K. W.,* und *K. Plenge:* Klin. Wschr. *1937* I, 223. — *Cooper, K. E., F. C. Happold, J. W. McLeod* und *H. E. Woodcock:* Proc. Roy. Soc. Med. *29,* 1029, 1936. — *Crowell, M. J.:* J. Bact. (Amer.) *11,* 65, 1926. — *Cruveilhier, L.:* Ann. Inst. Pasteur *19,* 249, 1905. — *D'Antona, L.:* Rev. Immunol. *3,* 413, 1937. — *Debré, R., G. Ramon* und *P. L. Thiroloix:* Ann. Méd. *29,* 460, 1931. — *Deicher, H.,* und *F. Agulnik:* Dtsch. med. Wschr. *1927* I, 825. — *Dernby, K. G.,* und *L. E. Walbum:* Biochem. Z. *138,* 505, 1923. — *Dieckhoff, J.:* Z. exper. Med. *105,* 607, 1939; Arch. Kinderheilk. *138,* 49, 1949. — *Doerr, R.:* Die Immunitätsforschung. III, Die Antigene. Springer, Wien 1948; IV, Die Antikörper. Springer, Wien 1949. — *Dold, H.:* Dtsch. med. Wschr. *53,* 1760, 1927. — *Dold, H.,* und *F. Weigmann:* Z. Hyg. *116,* 158, 1934. — *Doskocil, A.:* Cas. lék. cesk. *1730,* 1933 und *768,* 1934 (Ref. Zbl. Kinderheilk. *29,* 1934 und *30,* 1935). — *Dudley, F. Sh.:* Proc. Roy. Soc. Med. *29,* 1, 1935. — *Ehrlich, P.:* Wertbestimmung des Diphtherieserums. Jena 1897. — *Ehrlich, P., H. Kossel* und *A. Wassermann:* Dtsch. med. Wschr. *1894,* 353; Zbl. Bakter. *15,* 924, 1904. — *Eisler, M.:* Z. Immun.forschg. *56,* 209, 1928. — *Eisler, M.,* und *N. Kovacs:* Z. Immun.forschg. *46,* 238, 1926. — *Escherich, Th.:* Diphtherie, Croup, Serumtherapie. Prochaska, Wien 1895. — *Etris, S.:* J. inf. Dis. *55,* 220, 1934. — *Feierabend, B.,* und *O. Schubert:* Z. Immun.forschg. *62,* 283, 1929. — *Fejes, K.,* und *Z. Teveli:* Mschr. Kinderheilk. *86,* 238, 1941. — *Fibiger, J.:* One Serumbehandlung of Difteri. Hosp. Tid. Vol. 6, 1904, R. 309. — *Finkelstein, H.,* und *E. Königsberger:* Dtsch. med. Wschr. *53,* 1227, 1927. — *Friedberger, E.:* Die Diphtherieepidemien der letzten Jahre, das Heilserum und die Schutzimpfung. Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien 1931. — *Friedemann, U.:* Klin. Wschr. *1922,* 21 und Med. Klin. *1922,* 19. — *Frobisher, J. M.,* und *E. L. Updyke:* J. Bact. (Amer.) *54,* 609, 1947. — *Galeotti-Flori, A.:* Riv. clin. Pediatr. *44,* 92,

1946. — *Geiger, J. C.,* und *M. S. Marshall:* Arch. Pediatr. *67,* 495, 1950. — *Gins, H. A.:* Beiträge zur Pathogenese und Epidemiologie der Infektionskrankheiten. Thieme, Leipzig 1935. — *Glenny, A. T.,* und *M. Barr:* J. Path. Bact. *35,* 91 und 142, 1932. — *Glenny, A. T., C. G. Pope* und *H. Waddington:* J. Path. Bact. *28,* 279, 1925. — *Goebel, F.,* und *J. Ströder:* Dtsch. med. Wschr. *35,* 389, 1948. — *Gohar, M. A., A. Elian* und *F. A. Elez:* Z. Hyg. *134,* 598, 1952. — *Goldie, H.:* C. r. Soc. Biol. *112,* 1210, 1933. — *Goliborska, T. K., K. Lachowics, F. Przesmycki* und *J. Seydel:* Zbl. Kinderheilk. *34,* 276, 1938. — *Görtzen, J.:* Zbl. Bakter. I. Orig. *138,* 366, 1937. — *Gottstein, A.:* Berl. klin. Wschr. 1893; Ther. Mh. *1901,* 605 und *1902,* 167; Die Periodizität der Diphtherie und ihre Ursachen. Hirschwald, Berlin 1903; Kinderärztl. Praxis 1931, H. 2. — *Greve:* Zit. n. v. Bokay. — *Gundel, M.,* und *N. Erzin:* Zbl. Bakter. I. Orig. *136,* 24, 1936; Dtsch. med. Wschr. *1936* II, 1292. — *Haase, W. G.:* Zbl. inn. Med. *1943,* 27. — *Hamburger, F.:* Die Diphtherie. Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien 1937. — *Hammerschmidt, J.:* Zbl. Bakter. I. Orig. *93,* 443, 1924; Dtsch. med. Wschr. *1924* II, 1831; Klin. Wschr. *1935,* 964. — *Hartley, P., W. J. Tulloch, M. Anderson, W. A. Davidson, J. Grant, W. M. Jamieson, C. Neubauer, R. Norton* und *G. H. Robertson:* A Study of Diphtheria in Two Areas of Great Britain. His Majesty's Stationery Office, London 1950. — *Havens, L. C.:* J. inf. Dis. *26,* 388, 1920. — *Havens, W. P.* jr., *J. M. Shaffer* und *C. J. Hopke* jr.: J. Immunol. *67,* 347, 1951. — *Heilmeyer, L.,* und *K. Plötner:* Das Serumeisen und die Eisenmangelkrankheiten. Fischer, Jena 1937. — *Heißen, G.:* Z. Kinderheilk. *52,* 372, 1932. — *Hettche, H. O.,* und *M. Becker:* Z. Immun.forschg. *96,* 440, 1939. — *Heubner, O.:* Lehrbuch der Kinderheilkunde. I. J. A. Barth, Leipzig 1903. — *Hilgers, W.,* und *F. Thoenes:* Jb. Kinderheilk. *147,* 339, 1936. — *Hirszfeld, H.,* und *H. H. Hirszfeld:* Ann. Méd. *29,* 535, 1931. — *Hirszfeld, H., L. Hirszfeld* und *H. Brokman:* C. r. Soc. Biol. *90,* 1198, 1924. — *Hockerts, Th.,* und *J. Ströder:* Arch. Kinderheilk. *140,* 82, 1950. — *Hofmeier, K.:* Klin. Wschr. *1937* I, 329; Kinderärztl. Praxis *9,* 20 und 67, 1938. — *Horsters, H.,* und *R. Sasse:* Klin. Wschr. *1947,* 692. — *Hottinger, A.:* Kongr. d. Ges. Dtsch. Kinderärzte, Dresden 1931; Über die maligne, sogenannte toxische Diphtherie. Karger, Berlin 1932; in Handb. inn. Med., Mohr-Staehelin, 4. Aufl. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952. — *Hottinger, A.,* und *G. Hottinger:* Z. Kinderheilk. *54,* 440, 1933. — *Isiyama, G.:* J. orient. Med. *28,* 78, 1938 (Ref. Zbl. Bakter. *131,* 104). — *Ivanić, St. Z., V. Dimitrijević-Speth* und *L. Jovanovic:* Zbl. Bakter. I. Orig. *121,* 64 und 432, 1931. — *Jacobi, A.:* In: Handb. Kinderkrankh., C. Gerhardt, Bd. 2. Laupp, Tübingen 1877. — *Jürgens, G.:* Grundlagen der Epidemiologie. J. A. Barth, Leipzig 1936. — *Kassowitz, K.:* Praktische Kinderheilkunde. Springer, Berlin 1910. — *Kirch, E.:* Z. Laryng. usw. *20,* 81, 1931. — *Kißkalt, K.:* Z. Hyg. 103, 1924. — *Kleinschmidt, H.:* Dtsch. med. Wschr. *1934* I, 779. — *Kliewe, H.,* und *A. Hofmann:* Mschr. Kinderheilk. *35,* 318, 1927. — *Knox, R.:* J. Path. Bact. *45,* 733, 1937. — *Koch, H.:* Arch. Kinderheilk. *111,* 129, 1937; Mschr. Kinderheilk. *96,* 322 und 349, 1949. — *Koch, O.,* und *G. B. Roemer:* Klin. Wschr. *30,* 654, 1952. — *Kollath, J.:* Münch. med. Wschr. *1934* II, 1577. — *Kolle, W., K. Joseph* und *H. Schloßberger:* Arb. aus d. Inst. f. exper. Therapie, Frankfurt a. M. Fischer, Jena 1919, H. 8. — *Königsberger, E.:* Arch. Kinderheilk. *84,* 265, 1928. — *Koschate, J.:* Klin. Wschr. *1931* I, 62. — *Kraus, R.:* Wien. klin. Wschr. *1908,* 28. — *Kraus, R.,* und *St. Baecher:* Z. Immun.forschg.

31, 85, 1921. — *Krause, W. W.:* Med. Klin. *45,* 417, 1950. — *Krech, U.:* Z. Immun.forschg. *107,* 333, 1950 und *109,* 427, 1952. — *Kuczynski, M. H.,* und *W. Ferner:* Klin. Wschr. *18,* 826, 1923. — *Landsteiner, K.,* und *M. W. Chase:* Proc. Soc. exper. Biol. Med. *32,* 713 und 1208, 1935. — *Langer, J.:* Med. Klin. *1935* I, 382. — *Lathrop, C. O.,* und *Ch. A. Benz:* Proc. Soc. exper. Biol. Med. *19,* 249, 1922. — *Lesbré, Ph.,* und *A. Nerle:* Presse méd. *55,* 719, 1947. — *Lichtenstein, A.:* Z. Kinderheilk. *51,* 755, 1931. — *Linggood, F. V.,* und *E. L. Fenton:* Brit. J. exper. Path. *28,* 354, 1947. — *Lippelt, H.,* und *F. H. Caselitz:* Z. Hyg. *130,* 97, 1949. — *Loiseau, G.,* und *M. Philippe:* C. r. Soc. Biol. *117,* 1056, 1934. — *Lorey, A.:* Med. Klin. *1912,* 1069. — *Madsen, Th.:* Z. Hyg. *1924,* 103. — *Madsen, Th.,* und *S. Schmidt:* C. r. Soc. Biol. *102,* 1093, 1929. — *Mair, W.:* J. Path. Bact. *31,* 136, 1928. — *Maitland, H. B., F. N. Marshall, G. F. Petrie* und *D. T. Robinson:* J. Hyg. *50,* 97, 1952. — *Marfan, A. B.:* Leçons cliniques sur la diphtérie. Masson et Cie, Paris 1905; Clin. des Maladies de la première enfance. Masson et Cie, Ed. II, Paris 1931. — *Mariani, G.:* Pathologica *28,* 99, 1936. — *Maurans, de:* Sem. méd. *51,* 401, 1901. — *McClean, D.:* Lancet *1,* 595, 1941. — *McLeod, J. W.,* und *J. G. Thompson:* J. Path. Bact. *34,* 667, 1931. — *McMaster, Ph. D.,* und *J. G. Kidd:* Ann. J. Path. *12,* 771, 1936; J. exper. Med. *66,* 75, 1937. — *McSweeney, C. J.:* Lancet *1,* 208, 1941. — *Meyer, K.:* In: Advances in Protein Chemistry, Anson-Edsall, Acad. Press Inc., New York 1945, S. 270. — *Meyer, K., E. Hahnel* und *R. Feiner:* In: Advances in Protein Chemistry, Anson-Edsall, Acad. Press Inc., New York 1945, S. 258. — *Moggi, D.:* Riv. clin. Pediatr. *31,* 1055, 1933. — *Morton, H. E.,* und *L. M. Gonzalez:* J. Immunol. (Amer.) *45,* 63, 1942. — *Mueller, J. H.:* J. Immunol. (Amer.) *42,* 343 und 353, 1941. — *Mueller, J. H.,* und *P. A. Miller:* J. Immunol. (Amer.) *40,* 21, 1941. — *Müller, H.:* Z. Kinderheilk. *74,* 454, 1954. — *Müller, R.:* Medizinische Mikrobiologie. 3. Aufl. Urban und Schwarzenberg, Berlin-München-Wien 1946, S. 251. — *Murray, F.:* Brit. J. exper. Path. *16,* 384, 1935. — *Niggemeyer, H.:* 49. Tg. d. Dtsch. Ges. Kinderheilk., Düsseldorf 1949; Z. Kinderheilk. *68,* 368 und 531, 1950. — *Niggemeyer, H.,* und *V. Dubrauszky:* Z. exper. Med. *120,* 627, 1953. — *Noble, W. C.* jr., und *F. E. D. Knacke:* J. Bact. *15,* 55, 1928. — *Okell, C. C.,* und *H. J. Parish:* J. Hyg. *25,* 355, 1926. — *Olitzki, L., L. A. Stuczynski* und *N. Grossowicz:* J. Immunol. *60,* 419, 1948. — *O'Meara, R. A. Q.:* Irish J. med. Sci. 778, 1939; J. of Path. a. Bact. *51,* 317, 1940; Lancet *15,* 205, 1941; 49. Tg. d. Dtsch. Ges. Kinderheilk., Düsseldorf 1949. — *O'Meara, R. A. Q., H. H. Balch* und *P. A. McNally:* Irish J. med. Sci. 799, 1946. — *Otto, H.,* und *H. W. Hasemeyer:* Mschr. Kinderheilk. *78,* 152, 1939. — *Otto, H.,* und *G. Mittag:* Klin. Wschr. *1937* I, 294. — *Pappenheimer, J. M. A.:* Bull. New York Acad. Med. *24,* 331, 1948. — *Pappenheimer, J. M. A.,* und *E. D. Hendee:* J. Biol. Chem. *1171,* 701, 1947. — *Pappenheimer, J. M. A.,* und *S. J. Johnson:* Brit. J. exper. Path. *17,* 335, 1936. — *Pappenheimer, J. M. A.,* und *L. H. S. Sherwood:* Amer. J. Hyg. *47,* 226, 1948. — *Parish, H. J., E. E. Whatley* und *R. A. O'Brien:* Brit. med. J. *2,* 915, 1932; J. Path Bact. *35,* 653, 1932. — *Park, W. H.,* und *A. W. Williams:* J. exper. Med. *1,* 164, 1896. — *Paschlau, G.:* Klin. Wschr. *1938,* 217 und *1937,* 994. — *Paschlau, G.,* und *M. Sudhues:* Klin. Wschr. *1936* I, 145. — *Pernice, W.:* Behringwerk-Mitteilungen, H. 6, S. 71, 1934. — *Pesch, K.:* Klin. Wschr. *1936,* 949. — *Pettersson, A.:* Acta Soc. Med. Fehn. XII, *15,* 1, 1932. — *Place:* Zit. n. v. Bokay. — *Pontano, T.:* Policlinico Sez. med. *38,* 597, 1931. — *Pope, C. G.:*

Brit. J. exper. Path. *13*, 207 und 218, 1932. — *Pope, C. G.*, und *P. Healy:* Brit. J. exper. Path. *14*, 87, 1933. — *Povitzky, O. R., M. Eisner* und *E. Jackson:* J. infect. Dis. *52*, 246, 1933. — *Prigge, R.:* Z. Immun.forschg. *77*, 421, 1932 und *81*, 185, 1934. — *Prinzig, Fr.:* Württemb. med. Correspondenzblatt 13/14, 59, 1889. — *Ramon, G.*, und *E. Lemétayer:* C. r. Soc. Biol. *109*, 1254, 1932. — *Rendu, R.:* Gaz. Hôp. Paris *120*, 351, 1947. — *Robinson, D. T.*, und *A. L. P. Peeney:* J. Path. Bact. *43*, 403, 1936. — *Rolly, F.:* Münch. med. Wschr. *1916* II, 1427. — *Roux, M. E., M. L. Martin* und *H. A. Chaillou:* Ann. Inst. Pasteur *8*, 640, 1894. — *Roux, M. E.*, und *A. Yersin:* Ann. Inst. Pasteur *2*, 629, 1888 und *3*, 273, 1889. — *Rudder, B. de:* Dtsch. med. Wschr. *1928* I, 385; Die akuten Zivilisationsseuchen. Thieme, Leipzig 1934. — *Schick, B.:* In: Handb. Kinderheilk., v. Pfaundler-Schloßmann, Ed. 4, Bd. 1, 1931. — *Schick, B., K. Kassowitz* und *P. Busacchi:* Z. exper. Med. 4, 1914. — *Schiff, F.:* J. infect. Dis. *65*, 127, 1939. — *Schlirf, K.:* Zbl. Bakter. I. Orig. *142*, 1, 1938; *146*, 225, 1941; *148*, 289, 1942. — *Schloßberger, H.:* Zbl. Bakter. I. Orig. *135*, 6, 1935. — *Schmidt, H.:* Dtsch. med. Wschr. *1927* II, 1810; Die Praxis der Auswertung von Toxinen und Antitoxinen. Fischer, Jena 1931; Grundlagen der spezifischen Therapie. Schultz, Berlin 1940; 49. Tg. d. Dtsch. Ges. Kinderheilk., Düsseldorf 1949. — *Schmidt, S.*, und *Fjord-Neelson:* Acta Path. Microb. *12*, 1, 1935. — *Schuback, A.*, und *W. Sattler:* Dtsch. med. Wschr. *74*, 552, 1949. — *Seckel, H.:* Die Typologie der Halsdiphtherie. Karger, Berlin 1937; Amer. J. Dis. Child. *58*, 512, 1939. — *Seemüller, G.:* Z. Path. Bakter. *10*, 433, 1947; Z. Immun.forschg. *106*, 469, 1949. — *Seligmann, E.*, und *E. Schloß:* Z. Kinderheilk. *4*, 451, 1912. — *Semah, Fr.:* Acta paediatr. (Stockh.) *27*, 219, 1939. — *Sherwood, L. H.*, und *J. M. A. Pappenheimer:* Bull. New York Acad. Med. *24*, 334, 1948. — *Siebenmann, Ch.:* J. Path. Bact. *28*, 354, 1947. — *Sohier, R.*, und *J. Demarchi:* Ann. Inst. Pasteur *74*, 401, 1948. — *Sordelli, A., A. Manzullo, R. Navarro Viola* und *J. Ferrari:* Rev. Inst. bact. *12*, 494, 1944. — *Spranger, H.:* Veröffentl. aus d. Geb. der Med. Verwaltg. XXIV, 1927, H. 3. — *Stroé, A.*, und *D. Hortopan:* Arch. Méd. Enf. *40*, 681, 1937. — *Ströder, J.:* Fol. Haemat. *67*, 1, 1943; Arch. Kinderheilk. *133*, 72, 1947; Erg. inn. Med. *62*, 532, 1942; 49. Tg. d. Dtsch. Ges. Kinderheilk., Düsseldorf 1949. — *Ströder, J.*, und *H. Niggemeyer:* Dtsch. med. Wschr. *1950*, 926; Z. exper. Med. *119*, 301, 1952; Arch. Kinderheilk. *147*, 39, 1953. — *Ströder, J.*, und *D. Schneider:* Z. Hyg. *139*, 9, 1954. — *Szirmai, F.:* In: v. Bokay, Erg. inn. Med. *42*, 463 und *43*, 428, 1932. — *Tarnowski, G.*, und *E. v. Busse:* Zbl. Bakter. *151*, 226, 1944; Dtsch. med. Wschr. *1944*, 514. — *Timmermann, W. A., A. C. Brandwijk* und *E. A. J. Pel:* Nederl. Tijdschr. Geneesk. *1936*, 3546. — *Tonutti, E.:* Z. mikrosk.-anat. Forschg. *52*, 32, 1942; Klin. Wschr. *1949*, 569. — *Trousseau, A.: Med.* Klinik des Hôtel-Dieu in Paris. Ed. II, Vol. I. Stahel, Würzburg 1866. — *Updyke, E. L.*, und *J. M. Frobisher:* J. Bact. *54*, 619, 1947. — *Wadsworth, A.*, und *H. W. Wheeler:* J. infect. Dis. *55*, 123, 1934. — *Weigmann, F.*, und *H. Hölzl:* Z. Hyg. *122*, 673, 1940. — *Weigmann, F.*, und *A. Koehn:* Z. Hyg. *118*, 507 und 516, 1936. — *Weinberg, M.*, und *Combiesco:* Ann. Inst. Pasteur *45*, 547, 1930. — *Wildführ, G.:* Zbl. Bakter. I. Orig. *154*, 26, 1949. — *Zinnemann, K.:* J. Path. Bact. *55*, 275, 1943. — *Zinnemann, K.*, und *J. Zinnemann:* J. Path. Bact. *48*, 155, 1939. — *Zironi, A.:* Z. Immun.forschg. *99*, 309, 1941. — *Zischinsky, H.:* Jb. Kinderheilk. *142*, 51, 1934 und Beiheft 36, 1934.

Adresse des Autors: Priv.-Doz. Dr. med. *Heinz Niggemeyer*, Universitäts-Kinderklinik Würzburg (Bayern, Deutschland).